



Título del trabajo:

**Métodos de laboratorio utilizados en la rehabilitación de una Tortuga verde
(*Chelonia mydas*) con fractura múltiple de caparazón.**

Autor: M.V. Laura Díaz Burgos

Director: Dra. Rosana Mattiello.

Codirector: Dr. Eduardo Mortola.

Resumen:

La Tortuga verde (*Chelonia mydas*) habita los mares tropicales y subtropicales del mundo. Esta especie se encuentra gravemente amenazada por efectos antrópicos por lo que se halla incluida en el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), y para la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en la categoría “*En Peligro*”. El 16 de enero de 2016, apareció en San Clemente del Tuyú, Buenos Aires, Argentina, una tortuga marina verde macho con cortes profundos, hundimiento y pérdida de parte del dorso de su caparazón provocado por las hélices de un motor, que dejaba a la vista la fascia pulmonar. Las lesiones comprometían al 50 por ciento de éste y además a la columna vertebral a nivel cervical, torácico y lumbar. Su sensorio y tono muscular se encontraban muy deprimidos. Fue trasladada al Centro Provincial de Rescate de la Fundación Mundo Marino dónde se le aplicó la terapia de urgencia y de soporte. Se le tomaron muestras biológicas para estudios hematológicos, bioquímicos, bacteriológicos y parasitológicos que se realizaron en el laboratorio clínico veterinario de Mundo Marino y estudios micológicos que se realizaron en el laboratorio de micología del Instituto ANLIS, “Dr. Carlos G. Malbrán”, durante todo el tiempo de rehabilitación del paciente. Realizar exámenes de laboratorio a los pacientes en rehabilitación es una herramienta fundamental para ir guiando al Veterinario Clínico en el diagnóstico y tratamiento, y así poder lograr una exitosa recuperación de los animales.

Palabras clave: *Chelonia mydas*, muestras biológicas, análisis clínico y rehabilitación.

Abstract:

The green turtle (*Chelonia mydas*) inhabits the tropical and subtropical seas of the world. Since this species is seriously threatened by anthropogenic effects, it is included in Appendix I of The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), and for the International Union for Conservation of Nature (IUCN), in the category Endangered. On January 16th 2016, a male green sea turtle arrived in San Clemente del Tuyú, Buenos Aires, Argentina, with deep cuts, sunken shell, and loss of the back part of its shell caused by the propellers of an engine, which left the turtle with pulmonary fascia at sight. These injuries compromised 50 percent of the spine at the cervical, thoracic, and lumbar levels. As a result, its sensorium and muscle tone were very depressed. The green turtle was transferred to the Provincial Rescue Center of the Mundo Marino Foundation to receive emergency and support therapy. Biological samples were taken for hematological, biochemical, bacteriological and parasitological studies that were transported and analyzed in the veterinary clinical laboratory of Mundo Marino, and mycological studies that were taken at the mycology laboratory of the Institute ANLIS, "Dr. Carlos G. Malbrán", during the entire rehabilitation period of the patient. Performing laboratory tests for patients in rehabilitation is a fundamental tool to guide the Clinical Veterinarian in the diagnosis and treatment, and thus achieve a successful recovery of animals.

Keywords: *Chelonia mydas*, biological samples, clinical analysis and rehabilitation.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Índice:

Abreviaciones	Pág. 8.
Introducción	Pág. 9.
Objetivos	Pág.12.
1. Descripción del caso clínico	Pág.13.
2. Metodología	Pág.20.
2.1. Toma y transporte de muestra sanguínea	Pág.20.
2.1.1 Hematología sanguínea	Pág.21.
2.1.2 Bioquímica sanguínea	Pág.23.
2.2 Bacteriología	Pág.24.
2.3 Micología	Pág.25.
2.4 Parasitología	Pág.25.
3. Resultados.	Pág.26.
4. Discusión.	Pág.30.
5. Conclusiones	Pág.39.
6. Bibliografía	Pág.40.
7. Apéndice	Pág.48.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Índice de tablas:

Tabla 1. Resultados hematológicos enero 2016 a junio 2016.....	Pág. 28
Tabla 2. Resultados hematológicos julio 2016 a diciembre 2016.....	Pág.28
Tabla 3. Resultados hematológicos enero 2017 a junio 2017.....	Pág. 29
Tabla 4. Resultados hematológicos julio 2017 a diciembre 2017.....	Pág. 29

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Índice de fotos:

Foto 1: Tortuga marina verde macho con cortes profundos.....	Pág 13.
Foto 2: Corrección quirúrgica del caparazón.....	Pág.15.
Foto 3: Tomografía inicial.....	Pág.16.
Foto 4: Remoción de trozos de caparazón por falta de irrigación.....	Pág.17.
Foto 5: Lisado embrionario aviar (LEA) inyectado en el borde del caparazón.....	Pág.18.
Foto 6: Extracción de sangre del seno cérico dorsal.....	Pág.20.
Foto 7: Determinación del hematocrito, utilizando micro centrifuga.	Pág.21.
Foto 8: Cámara de Neubauer, glóbulo blanco (A) y glóbulos rojos (B).....	Pág. 22.
Foto 9: Frotis sanguíneo, glóbulos rojos nucleados.....	Pág. 23.
Foto 10: Analizador químico semiautomático MindrayBA-88 ^a	Pág.24.
Foto 11: Evolución del paciente: notoria regeneración del caparazón.....	Pág.29.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Índice de gráficas- Apéndice D.

Gráfica 1. Creatinina 2016.....	Pág.52.
Gráfica 2. Creatinina 2017.....	Pág.52.
Gráfica 3. Ácido úrico2016.....	Pág.53.
Gráfica 4. Ácido úrico 2017.....	Pág.53.
Gráfica 5. LDH 2016.....	Pág 54.
Gráfica 6. LDH 2017.....	Pág 54.
Gráfica 7. CPK 2016.....	Pág 55.
Gráfica 8. CPK 2017.....	Pág 55.
Gráfica 9. AST-GOT 2016.....	Pág 56.
Gráfica 10. AST-GOT 2017.....	Pág 56.
Gráfica 11. Fósforo 2016.....	Pág 57.
Gráfica 12. Fósforo 2017.....	Pág 57.
Gráfica 13. Calcio 2016.....	Pág 58.
Gráfica 14. Calcio 2017.....	Pág 58.
Gráfica 15. Proteínas totales 2016.....	Pág 59.
Gráfica 16. Proteínas totales 2017.....	Pág 59.
Gráfica 17. Glucosa 2016.....	Pág 60.
Gráfica 18. Glucosa 2017.....	Pág 60.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Abreviaciones:

- **AST-GOT:** aspartatoaminotransferasa.
- **BID:** Dos veces al día, Latín "*bis in die*".
- **CITES:** Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora/Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.
- **CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute/Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.
- **CPK:** Creatinfosfoquinasa.
- **DHEA:** Dehidroepiandrosterona.
- **EMB:** eosina azul de metileno.
- **FMM:** Fundación Mundo Marino.
- **IM:** Intramuscular.
- **IR:** Inmuno-reptil.
- **Kg:** Kilogramo.
- **LDH:** lactato deshidrogenasa.
- **mg:** Miligramo.
- **PCV:** Packed Cell Volume.
- **RBC:** Red blood cells, glóbulos rojos.
- **RPM:** Revoluciones por minuto.
- **SID:** una vez al día, Latín "*sem'el in die*".
- **SNC:** Sistema nervioso central.
- **UICN:** International Union for Conservation of Nature-Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.
- **UV:** ultravioleta
- **WBC:** White blood cells, glóbulos blancos.

Introducción

La Tortuga verde (*Chelonia mydas*) habita los mares tropicales y sub-tropicales del mundo, entre ellos el mar Argentino, se la suele encontrar desde el estuario del Río de la Plata hasta Puerto Pirámides, provincia de Chubut. Su presencia es frecuente en el periodo estival. Esta especie se encuentra gravemente amenazada por la contaminación marina, los desarrollos hoteleros, modificaciones en playas de anidación, por el uso irresponsable del turismo y la pesca accidental. Como consecuencia de esta situación, esta especie se encuentra incluida en el Apéndice I de la CITES y para la UICN en la categoría “*En Peligro*”. En Argentina la Ley Nacional 22.421, el Decreto 666/97 y las resoluciones 1089 (del año 1998), 3 (del año 2001) y 91 (del año 2003) protegen a las tortugas marinas a nivel Nacional (Prado y col., 2012).

Durante el mes de enero de 2016, ingresó al Centro Provincial de Rescate de la Fundación Mundo Marino una Tortuga verde (*Chelonia mydas*) macho con una fractura múltiple del caparazón, ocasionada probablemente por la hélice de una embarcación. El pronóstico fue reservado, ya que presentaba una herida profunda comprometiendo órganos vitales como pulmones y también la columna vertebral.

Para realizar una rehabilitación adecuada, resulta necesario acudir a diferentes métodos complementarios de diagnóstico de laboratorio, tema principal de este trabajo final integrador, para arribar a diagnósticos certeros y tratamientos apropiados.

Los métodos de laboratorio como: hematología, bioquímica sanguínea, bacteriología, parasitología y micología son indispensables, puesto que nos dan un panorama real del estado de salud del animal. Debido a que nuestro paciente era un reptil marino, debimos adaptar las técnicas estándares e interpretar los resultados de acuerdo a la fisiología propia de la especie.

Los parámetros sanguíneos en reptiles, en general, y quelonios marinos, en particular, son influenciados por muchos factores como: temperatura, humedad, salinidad del agua, edad, sexo, estado fisiológico como la hibernación o reproducción, etc. (Christopher y col., 1999; Dickinson y col., 2002; Heard y col., 2004).

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Algunos cambios observados en la bioquímica sanguínea de las tortugas marinas están relacionados a la ectotermia y a la concentración de iones sanguíneos (Lutz y Dunbar-Cooper, 1987). Por lo tanto, cuando se realiza una interpretación de datos hematológicos o bioquímicos, se debe considerar la gran influencia que determinados factores externos tienen sobre la fisiología normal y la salud de los vertebrados ectotérmicos, en comparación con los vertebrados endotérmicos, ya sean terrestres o marinos.

En tortugas marinas también se han demostrado diferencias significativas entre parámetros sanguíneos en función de la alimentación y zona geográfica (Casal y col., 2009). Además, diferencias en la condición física y más aún el estado de salud de tortugas marinas varadas, deben ser tenidos en cuenta a la hora de interpretar los valores de parámetros sanguíneos (Anderson y col., 2011; Casal y Orós, 2009; Innis y col., 2007).

El examen microbiológico y el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos de las diferentes bacterias y hongos aislados en muestras biológicas tiene como objetivo fundamental, guiar al clínico en la elección del mejor tratamiento antibiótico o antimicótico específico y no basarse solo en tratamientos empíricos (Sham, 1996).

Los parásitos son componentes integrales de los ecosistemas marinos. Pueden ser indicadores de la biodiversidad del ecosistema general (a nivel de población, familia, género o especie), del funcionamiento del ecosistema como la estabilidad de la red trófica (Mattiucci y Nascetti, 2007), de las migraciones de sus especies hospedadoras (como las poblaciones de peces), pero también de la historia filogenética de sus huéspedes (Mattiucci y col., 2008). En cualquier nivel taxonómico del huésped, la diversidad de parásitos se puede entender como determinada por dos filtros, es decir, la probabilidad de encuentro y la compatibilidad fisiológica entre el huésped y el parásito. Ambos filtros contienen componentes evolutivos y ecológicos (Holmes, 1990; Hoberg y Klassen, 2002; Santoro y Mattiucci, 2009).

Es importante destacar que en estos animales (*Chelonia mydas*), los registros que existen en Argentina son muy escasos y cualquier aporte, es válido para conocer más sobre las tortugas marinas e ir generando registros que nutran nuestra base de datos y la bibliografía en general.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Objetivos:

Objetivo general

- Describir y aplicar técnicas de laboratorio para monitorear el proceso de rehabilitación de una Tortuga verde (*Chelonia mydas*) que sufrió fractura múltiple de caparazón.

Objetivos específicos

- Aplicar las técnicas hematológicas utilizadas en reptiles.
- Realizar la bioquímica sanguínea para evaluar las diferentes enzimas y electrolitos.
- Emplear técnicas microbiológicas básicas, aislamiento, tipificación y sensibilidad antimicrobiana para establecer terapias adecuadas.
- Realizar el examen coprológico para evaluar la presencia de parásitos y poder establecer el tratamiento correspondiente.

1. Descripción del caso clínico.

El 16 de enero de 2016, apareció en la Tapera de López, Club Náutico de San Clemente del Tuyú, Buenos Aires, Argentina, una tortuga marina verde macho con cortes profundos, hundimiento y pérdida de parte del dorso de su caparazón provocado por las hélices de un motor, que dejaba a la vista la fascia pulmonar. Las lesiones comprometían el 50 por ciento de éste y además a la columna vertebral a nivel cervical, torácico y lumbar (**Foto 1**). Su sensorio y tono muscular se encontraban muy deprimidos. Rápidamente fue trasladada al Centro de Rescate Provincial de la Fundación Mundo Marino, sito en San Clemente del Tuyú, Argentina. En el Centro, se le practicó el protocolo de urgencia y estabilización, que comprendió la terapia de shock con dexametasona IM (0,1 mg/kg, BID) y doxapram (5 mg/kg SID), durante las primeras 24 h. Se realizó hidratación con solución de Ringer Lactato (50%) y dextrosa al 5% (50%), a razón del 1,5% de su peso corporal, durante las primeras 48 horas. Para la terapia antiinflamatoria se utilizó el flunixin meglumine (0,1 mg/kg IM, 5 días), y para el dolor tramadol (0,5 mg/kg IM, 5 días). La limpieza de las heridas se realizó con solución de iodo-povidona diluido a la mitad con agua estéril.

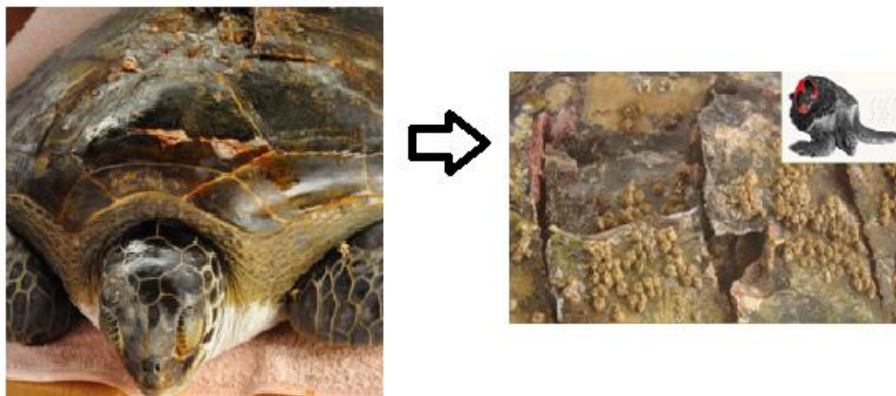


Foto 1: Tortuga marina verde macho con cortes profundos, hundimiento y pérdida de parte del dorso de su caparazón provocado por las hélices de un motor.

Posteriormente a la terapia de urgencia, se dejó reposar al ejemplar en decúbito ventral sobre un colchón húmedo fuera del agua a 45 grados de inclinación, con la cabeza hacia abajo, por un posible ahogamiento, y se la cubrió con una toalla humedecida para

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

evitar su deshidratación. Se tomaron muestras de sangre y materia fecal para ser analizadas con prontitud y así poder instaurar el tratamiento inicial y llevar a cabo las técnicas diagnósticas.

Una vez estabilizado el animal y según los resultados de laboratorio se empezó la antibioticoterapia con enrofloxacin 100 mg oral (5 mg/kg SID, 15 días) y amikacina IM (5 mg/kg cada 72 h, 15 días) y metronidazol (50 mg/kg SID PO, 15 días) **(Ver apéndice A)**. Se lo desparasitó con praziquantel (20 mg/kg) al día 1, 14 y 30; terminado el tratamiento se repitió el estudio coproparasitológico el cual arrojó resultados negativos, corroborando la efectividad del tratamiento.

Al tercer día, se realizó la corrección quirúrgica del caparazón. Se sedó al animal con midazolam (2 mg/kg IM) y se lo anestesió con ketamina (50 mg/Kg IM). Como analgésico se utilizó butorfanol (25 mg/Kg IM). Los trozos de caparazón fracturados y hundidos se elevaron y afrontaron con tornillos y alambre quirúrgico y se extrajeron los tejidos no vascularizados. El caparazón se selló con resina epoxi a los 20 días post reparación, posterior a la realización de cultivos microbiológicos que comprobaron la no contaminación de la herida **(Foto 2)**.

Al cuarto día de internación, el animal recibió alimentación asistida por sonda estomacal, compuesta por una fórmula a base de 50 g de camarón, 50 g de filete de pescadilla, 1 cucharada sopera de caseinato de calcio (Secalbum®), aceite de pescado (2 cápsulas), 2 hojas de espinaca, 2 comprimidos de espirulina y suplemento vitamínico mineral (carbonato de calcio 0,5 g x día), a razón del 3% de su peso corporal.

El 20 de enero 2016, se lo trasladó a una clínica humana, donde se le realizó radiografías digitales y tomografías, las que comprobaron el colapso del pulmón izquierdo y el desplazamiento de algunas vértebras torácicas **(Foto 3)**.

El 31 de enero de 2016, se repitieron los estudios hematológico y bioquímico, para evaluar su evolución y seguir controlando el estado de salud del animal.

El primero de febrero 2016, con el fin de acelerar la cicatrización de las heridas del caparazón, donde faltaban placas, se decidió utilizar un aloinjerto compuesto por hueso molido esterilizado por autoclave en el laboratorio de Mundo Marino, proveniente de un caparazón guardado de otra tortuga verde encontrada muerta en la playa tiempo atrás, el

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

cual fue mezclado con carbonato de calcio y colágeno desnaturalizado. Esto se realizó con la finalidad de facilitar el crecimiento del tejido óseo sobre un sustrato que le sirviera de guía **(Foto 2)**. Está técnica resultó efectiva para cicatrizar heridas que tenían soluciones de continuidad de bordes de hasta 4 cm de ancho.

Una vez fijadas y rellenadas las heridas del caparazón, se sellaron con Tegaderm®, film transparente, adherente e impermeable para que la tortuga, pudiera ser colocada en una pileta de agua poco profunda a 26 °C para evaluar su flotabilidad, incentivar la movilidad de sus aletas anteriores, evitar escaras por decúbito y deshidratación, y estimular la funcionalidad del tubo digestivo **(Foto 2)**.

A mediados de febrero 2016, se volvieron a tomar muestras sanguíneas para control, evaluando la hematología y bioquímica del animal e ir haciendo el seguimiento del funcionamiento de sus órganos.



Foto 2: Corrección quirúrgica del caparazón.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

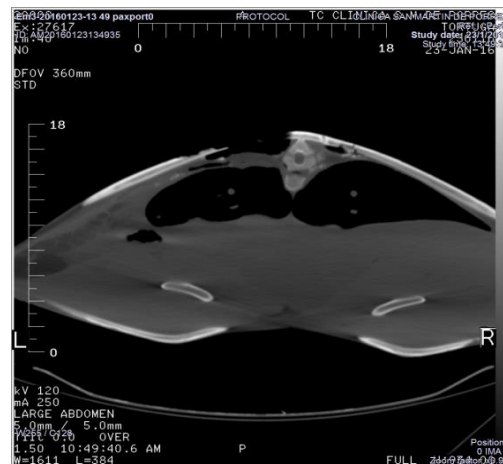


Foto 3. Tomografía inicial que evidencia el colapso y edema pulmonar, desplazamiento de vértebras y falta de continuidad del caparazón.

Para finales de marzo de 2016, el ejemplar había perdido 2 kg de peso. Se tomó una nueva muestra sanguínea para hematología y bioquímica, para evaluar los motivos del bajo peso del ejemplar. Esto nos llevó a reevaluar el contenido calórico de su dieta el que se elevó a 1.600 kcal por día. Se le suministró además, una preparación magistral a base de dehidroepiandrosterona (DHEA) liposomal a razón de 1ml SID durante 1mes, como anabólico y gradualmente se lo fue estimulando para que se alimentara por sí mismo. Aparte de la fórmula, se le fueron incorporando paulatinamente los siguientes ingredientes que constituyeron su dieta definitiva: corvina rubia entera 100 g, acelga cruda 250 g; achicoria verde 250 g; espinaca 250 g, balanceado para ciervos 50 g y carbonato de calcio 3 g, molidos e incorporados a gelatina sin sabor.

Para ayudar en el proceso de recuperación y con el fin de elevar su sistema inmune, se utilizó una preparación inmunoterapéutica denominada Inmuno-reptil (IR)(Mattiello y col, 2016), esta fue suministrada en forma continua a razón de 1 ml PO durante un mes, continuando luego tres veces por semana hasta finalizado el tratamiento.

Después de 15 días de tratamiento con el IR, la tortuga recuperó actividad y lentamente empezó a consumir el alimento sólido que se le ofrecía en la pileta. Permitió además, reducir el uso de antibióticos que se seguían administrando por infecciones

recurrentes de sus heridas y que se correspondían a recuentos de glóbulos blancos elevados (heterófilos).

El 14 de junio 2016: se percibió mal olor por debajo de las heridas de caparazón selladas con resina epoxy, esto nos llevó a reevaluar la situación. Se decidió retirar la resina utilizada para fijar las placas del caparazón y se halló que muchos de los trozos de caparazón, originalmente afrontados con suturas de alambre, perdieron irrigación y se necrosaron. Los mismos fueron removidos (**Foto4**).



Foto 4: Remoción de trozos de caparazón por falta de irrigación.

Se procedió a tomar nuevamente muestras sanguíneas para evaluar la hematología y bioquímica del paciente. Adicionalmente, se tomaron muestras para estudios bacteriológicos. En base a éstos últimos, se instauró un tratamiento antibiótico con cefuroxima IM (50mg/kg cada 48 horas por 7 días) y amikacina IM (5 mg/kg cada 72 h, 15 días).

Ante esta nueva complicación, se pensó en realizar un trasplante de células madres para intentar regenerar el caparazón lo antes posible. Así fue como la Fundación Mundo Marino (FMM) se contactó con el Laboratorio RS Cell, con el cual se empezó a realizar una terapia con plasma rico en trombocitos y células mesenquimales extraídas del tejido adiposo de tortugas terrestres donantes, debido a que el paciente, por su bajo peso, no disponía de reservas grasas.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Las células mesenquimales tienen la capacidad de transformarse en diferentes tipos de tejido (conectivo, músculo, hueso, piel, etc.), y se utilizan como una estrategia regenerativa para recuperar tejido original dañado. El factor de crecimiento plaquetario y las células mesenquimales fueron inyectados en los bordes del caparazón. Este tratamiento estimuló el crecimiento del mismo y, a pesar de ser un trasplante heterólogo, no se observó rechazo de tejido o reacción anafiláctica alguna. Lamentablemente, este se vio truncado por la falta de tortugas donantes, ya que, en invierno, la mayoría se encontraba hibernando. Además, la logística era complicada (traslado y trasplante de un cultivo celular refrigerado en pocas horas (máximo 6 h), de la Ciudad Autónoma de Bs. As. al Centro de Rescate distante a unos 315 km), y a lo costoso del procedimiento.

Basándonos en los principios del tratamiento anteriormente citado, implementamos con mucho éxito en lo que respecta a la velocidad de regeneración del caparazón de la tortuga, un lisado embrionario aviar (LEA), el cual fue inyectado a razón de 0,1 ml cada 0,5-1 cm de distancia en los bordes de todo el caparazón (Mattiello R, Díaz L, 2017) (**Foto 5**). Esto se pudo implementar gracias a la alta homología que existe entre las secuencias de los sitios activos de los receptores de los factores de crecimientos entre reptiles y aves.



Foto 5: Lisado embrionario aviar (LEA) inyectado en el borde del caparazón.

Durante el mes de diciembre de 2016, se evidenció un crecimiento de un microorganismo con aspecto macroscópico compatible a un hongo, el cual se cultivó en el

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

laboratorio de Mundo Marino, derivándose el micelio, los micro y macro conidios al laboratorio de micología del Instituto ANLIS (Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos Malbrán), para su tipificación.

Los estudios coproparasitológicos se realizaron con una rutina semestral.

Durante el 2017, se llevaron registros de sangre mensuales para hematología y bioquímica sanguínea, con el fin de tener un seguimiento exhaustivo del estado de salud del animal. Los parámetros sanguíneos se fueron normalizando conforme al ejemplar recuperaba peso y se controlaban las infecciones (la cicatrización). El animal, para ese entonces, comía por sus propios medios y nadaba regularmente. En la primavera de dicho año, se trasladó la tortuga a una pileta exterior de mayor tamaño, coincidiendo con el aumento de la temperatura ambiental, exponiéndose la al sol varias horas al día, con el fin de activar la vitamina D a través de los rayos UV. La limpieza de las heridas se hacían cada vez más espaciadas, gracias a la rápida regeneración del caparazón por el uso del LEA, esto colaboró a disminuir el estrés por manejo y por consiguiente a mejorar su comportamiento natural y alimenticio.

La evaluación constante de los resultados de laboratorio, nos aportaron datos de gran valor para ir direccionando el tratamiento en pro de la recuperación del paciente.

2. Metodología

2.1 Toma y transporte de muestras sanguíneas:

En todas las extracciones sanguíneas se posicionó al animal a 45 grados, con la cabeza más abajo que el resto del cuerpo, logrando de esta manera que se ingurgitaran las venas cervicales. Se desinfectó la zona con solución iodada, la aguja se colocó perpendicularmente a la superficie dorsal del cuello y se insertó a 1-3 cm de profundidad, extrayendo aproximadamente 8 a 10 ml de sangre de los senos cérvico dorsales ubicados lateralmente entre 0,5 a 1,0 cm de línea media del cuello (Wyneken y Witherington, 2001). Cada muestra se tomó en la mañana antes de la comida (**Foto 6**). Estas extracciones se hicieron usando jeringas de 10 o 20 ml, agujas hipodérmicas 21Gx1". De la sangre extraída: 5 ml se depositaron en dos tubos PP 12 x 75 con heparina de litio LH 2 (DVS), tapón de goma verde y se homogenizó durante 30 segundos; la sangre restante (5 a 8 ml aproximadamente), se colocó en tubos tapón rojo (BD vacutainer) con activador de la coagulación. Durante el primer mes, se le tomaron dos muestras al paciente, espaciadas por 15 días, para evaluar su evolución; luego se le extrajo sangre una vez al mes, para continuar evaluando el estado general del paciente.



Foto 6. Extracción de sangre del seno cérvicodorsal.

Las muestras colectadas se llevaron refrigeradas, directamente al laboratorio clínico veterinario de Mundo Marino para ser procesadas dentro de las cuatro horas posteriores a

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

la extracción, como sugiere la bibliografía sobre técnicas hematológicas (Molina y col., 2002).

2.1.1 Hematología sanguínea:

Para realizar el panel de hematología, se utilizó la sangre que se colectó en los tubos de tapón verde. Las técnicas se realizaron como lo describen los autores Sykes y Klaphake, 2008 y Lawrence, 1985.

La determinación del hematocrito fue efectuada por centrifugación de la sangre en tubos capilares con heparina (Biocap) a 12.000 RPM durante 5 minutos (Micro Centrifuga Giumelli Z-12) (**Foto 7**); para la lectura del mismo, se utilizó el ábaco (Giumelli). El método del microhematocrito es el más rápido y práctico para determinar el Packed Cell Volume (PCV) o hematocrito. Los recuentos totales de eritrocitos y leucocitos se realizaron en una cámara de Neubauer (cámara hemocitométrica) con una dilución de 1:50 en solución de Natt y Herrick (**Ver apéndice B, Foto 8**) (Lippincott Williams y Wilkins, 2000).



Foto 7. Determinación del hematocrito, utilizando micro centrifuga.

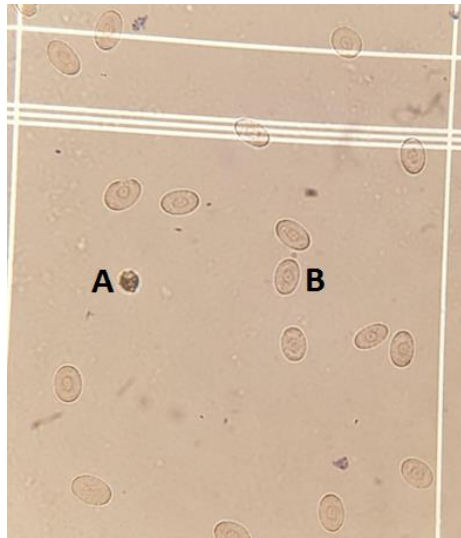


Foto 8. Cámara de Neubauer, glóbulo blanco (A) y glóbulos rojos (B).

La evaluación de la morfología de los eritrocitos y el recuento diferencial de leucocitos fue realizada a partir de los frotis sanguíneos teñidos con el método *May-Grünwald-Giemsa* (Biopack) tipo Romanowsky. *May-Grünwald-Giemsa* es la técnica de elección para las tortugas marinas, reptiles y aves en general ya que diferencia más fácilmente a los basófilos (Wilkinson, 2004). El extendido de la sangre se realizó sin anticoagulante e inmediatamente después de su extracción con el fin de disminuirla presencia de artefactos, como la degranulación de los granulocitos, la agregación y ruptura de trombocitos, cambios en las propiedades tintoriales de los leucocitos, vacuolización de los monocitos o aumento en el tamaño de los linfocitos, etcétera (Perpiñan et col., 2006).

Finalizada la preparación de la lámina, se colocó en el microscopio y con el objetivo 10x se revisó la calidad de la coloración y se inició la diferenciación de los leucocitos (heterófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, linfocitos), contando 100 células totales para obtener el porcentaje de cada célula leucocitaria (Cortez, 2015), obteniendo el valor relativo; y el valor absoluto de la línea leucocitaria.

Los eritrocitos de los reptiles tienen una forma elíptica, con los extremos redondeados y el núcleo, de redondo a oval, colocado en posición central. El citoplasma tiene una textura uniforme y es eosinófilo (**Foto 9**). En reptiles sanos puede encontrarse algún eritrocito en mitosis, siendo un hallazgo anecdótico. La detección de morfología nuclear anómala, binucleación o actividad mitótica son indicativos de que el animal tiene

una respuesta regenerativa marcada ante una anemia, en el momento de salir de la hibernación o cuando los animales presentan una enfermedad inflamatoria importante o malnutrición (Martínez, 2011).

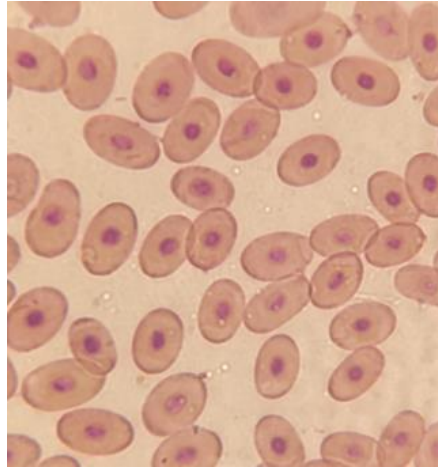


Foto 9. Frotis sanguíneo, glóbulos rojos nucleados.

Los heterófilos de los reptiles componen entre el 30 y el 45 % de los leucocitos en la sangre periférica (Stacy y col., 2011). Estudios citoquímicos y ultraestructurales han demostrado que la función de estas células es similar a la de los neutrófilos de los mamíferos, que consiste principalmente en la fagocitosis de bacterias y material extraño. Su aumento está asociado a procesos inflamatorios o infecciosos (Stacy y col., 2011; Campbell, 2004; Zhang y col, 2011). Algunas diferencias en los resultados del recuento de heterófilos en reptiles saludables en cautiverio en comparación con los individuos silvestres de la misma especie se ha atribuido a factores como el estrés, pudiéndose encontrar aumentados o disminuidos (Zhang y col, 2011; Stacy y Pessier, 2007, Velásquez y col; 2014).

2.1.2 Bioquímica sanguínea:

Las muestras que fueron colectadas en los tubos sin anticoagulante, se centrifugaron en la centrifuga universal de mesa modelo VT-3216 (Cavour) durante 10 minutos a 2.500 RMP. Posteriormente se procedió a separar el suero y se colocó en uno o dos viales eppendorf de 1,5 ml, dependiendo del volumen obtenido. En el equipo: Plasma biochemistry analizador químico semiautomático MindrayBA-88^a (**Foto 10**), se analizaron las siguientes

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

determinaciones: lactato deshidrogenasa (LDH), Creatinfosfoquinasa (CPK), glucosa, proteínas totales, ácido úrico, aspartatoaminotransferasa (AST-GOT), calcio y fósforo.



Foto 10: Analizador químico semiautomático MindrayBA-88^a.

2.2 Bacteriología:

Para la toma de muestra, se limpió cuidadosamente la herida que comprometía parte del dorso del caparazón de la tortuga, por arrastre mecánico con agua destilada estéril. La muestra se extrajo con un hisopo estéril, frotando suavemente el centro y los bordes internos de la herida en zigzag. La muestra obtenida, se introdujo cuidadosamente en un tubo de medio de transporte Stuart y se llevó directamente al laboratorio clínico veterinario de Mundo Marino para proceder al cultivo, aislamiento e identificación bacteriana por métodos convencionales de rutina.

Las muestras se sembraron en paralelo en los siguientes medios de cultivo: agar eosina azul de metileno (EMB) y cerebro corazón, preparados con agua destilada y agua destilada suplementada con 9.45 g/l de cloruro de sodio, 5.9 g/l de cloruro de magnesio (símil agar marino). Las placas se incubaron en aerobiosis en estufa a 30°C durante 24 a 48 h. Las bacterias aisladas fueron clasificadas utilizando la coloración de Gram (Biopurdiagnostics®) y las siguientes pruebas bioquímicas: oxidasa (Britania®), catalasa y panel API® BioMérieux.

Luego del crecimiento bacteriano y su clasificación, la colonia de interés, se sembró en Agar Mueller Hinton para realizar el antibiograma con mono discos Oxoid®, para los

siguientes antibióticos: enrofloxacin, cefuroxima, amikacina, gentamicina, trimetoprima/sulfametoxazol, amoxicilina/ácido clavulánico y amoxicilina, para cada microorganismo aislado. La lectura de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, expresado en mm, se interpretó según las categorías establecidas por el “*Clinical Laboratory Standards Institute*” (CLSI)¹. Este procedimiento se realizó cada vez que se tomó una muestra para ser cultivada en el laboratorio.

2.3 Micología:

Una muestra compatible con un hongo fue colectado en forma aséptica con hisopo estéril, realizando un barrido de la parte de la lesión comprometida por el microorganismo. La misma se cultivó en agar dextrosa Sabouraud con cloranfenicol. El aislamiento, se derivó al laboratorio de micología del Instituto ANLIS, para realizar su correcta tipificación y prueba de sensibilidad de los siguientes antifúngicos: anfotericina B, voriconazol, itraconazol, posaconazol, anidulafungina y caspofungina; estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad de los antifúngicos².

2.4 Parasitología:

Las muestras de heces frescas de tortugas se pueden examinar al microscópico óptico mediante la técnica directa para detectar infecciones por protozoos móviles y por técnicas de concentración: flotación o sedimentación para infestaciones por helmintos (Sloss y col., 1994).

Las deposiciones del paciente, se colectaron en un recipiente estéril hermético y se llevaron al laboratorio clínico veterinario de Mundo Marino, donde se le realizaron tanto exámenes directos diluyendo las heces en suero fisiológico, como el método de sucrosa de Sheather (flotación), una sedimentación estándar.

¹ Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2016. M100S. 26th Edition: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, Pensilvania, EE. UU.

² National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard NCCLS document M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards 2002.

3. Resultados

Los resultados de hematología, evidenciaron anemia causada por una hemorragia y los glóbulos blancos aumentados con heterofilia por infección de heridas (septicemia) (**Ver valores en Tabla 1**). Los resultados bioquímicos, mostraron hipoglucemia y disminución de las proteínas totales, por la falta de ingesta de alimento (glucosa: 50,6 mg/dl, valor de referencia: 71,49-183,76 mg/dl; proteínas totales 3,8 g/dl, valor de referencia: 4,5-7,5mg/dl); lactato deshidrogenasa (LDH) (**Gráfica 5, Apéndice D**), creatinfosfoquinasa (CPK) (**Gráfica 7, Apéndice D**), aspartatoaminotransferasa (AST) (**Gráfica 9, Apéndice D**), elevadas por el daño tisular sufrido (LDH: 321 U/L (valor de referencia: 24-223 U/L); CPK: 822 (valor de referencia: 228-706 U/L) y AST:330 U/L, (valor de referencia: 136-303 U/L)). La creatinina (**Gráfica 1, Apéndice D**) (creatinina: 1,2 mg/dl (valor de referencia 0,35-0,67 mg/dl) se encontraba elevada y el ácido úrico (**Gráfica 3, Apéndice D**) cercano al límite superior, por la deshidratación y septicemia; ácido úrico (2 mg/dl (valores de referencia: 1-2 mg/dl). El fósforo se encontraba elevado: 13,2 mg/dl (valor de referencia 4,4-9,9 mg/dl) (**Gráfica 11, Apéndice D**), y el calcio disminuido: 2,8 mg/dl (valores de referencia: 3,99-12,57 mg/dl) (**Gráfica13, Apéndice D**), por la pérdida de parte importante de su caparazón (reserva de calcio).

El análisis bacteriológico identificó los siguientes microorganismos: *Aeromonas spp.* y *Pseudomonas spp.* (cocobacilos Gram-negativos, oxidasa-positivos). El antibiograma correspondiente mostró sensibilidad a las siguientes drogas: enfrofloxacina, amikacina y cefuroxima.

Los resultados coproparasitológicos fueron compatibles con huevos pertenecientes a la Clase *Trematoda digenea* (+). Se instauró el tratamiento específico y al final del mismo se volvieron a evaluar las heces, siendo el resultado negativo.

Previo a proceder con la reconstrucción del caparazón, se tomaron muestras para estudios bacteriológicos para detectar la presencia de algún (microorganismo) tipo de contaminación. Al arrojar éste resultados negativos, se continuó con el procedimiento quirúrgico.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

La evaluación continua del cuadro hemático del paciente evidenció una anemia de tipo regenerativa, no solo por el aumento en los parámetros (hematocrito y glóbulos rojos), sino también en la evaluación de los frotis, se evidenció anisocitosis, mitosis eritrocitaria y reticulocitosis.

Para finales de marzo de 2016, el ejemplar había perdido 2 kg de peso. La evaluación hematología y bioquímica sanguínea, arrojó una marcada leucitosis con heterofilia, indicativa a procesos inflamatorios e infecciosos. Los resultados se muestran en la **Tabla 1**. Los valores de glucosa en sangre fueron inferiores que los anteriores; como consecuencia de esto, se implementó una nueva dieta. Los análisis posteriores evidenciaron un aumento de la glucemia que se mantuvo durante los meses subsiguientes (febrero: 57 mg/dl, marzo: 52 mg/dl, abril: 68 mg/dl; (valores normales: 71,49-183,76 mg/dl) **(ver Gráfica 17, Apéndice D)**. Con respecto al calcio también se evidenció mejoría con los suplementos que se indicaron en la dieta (6,2 mg/dl (valores de referencia: 3,99-12,57 mg/dl) **(Gráfica 13, Apéndice D)**.

El 14 de junio de 2016, la herida del animal expedía un olor putrefacto, esto nos alertó y se decidió remover la resina. Los exámenes sanguíneos coincidían con la sintomatología que estaba presentando el paciente, glóbulos blancos elevados desde enero 2016, que se correspondían con un proceso infeccioso **(Ver valores en Tabla 1)**. Lactatodeshidrogenasa (LDH) **(Gráfica 5, Apéndice D)**, creatinfosfoquinasa (CPK) **(Gráfica 7, Apéndice D)**, aspartatoaminotransferasa (AST) **(Gráfica 9, Apéndice D)**, elevadas por el daño tisular (LDH: 342 U/L, (valor de referencia: 24-223 U/L); CPK: 2439, valor de referencia: (228-706 U/L) y AST: 386U/L, (valor de referencia: 136-303 U/L).

La creatinina disminuyó permaneciendo en valores entre 0,3 a 0,4 mg/dl (valor de referencia: 0,35-0,67 mg/dl) **(Gráfica 1 y 2, Apéndice D)** y el ácido úrico disminuyó y se mantuvo entre 0.8 a 0,9 mg/dl (valor de referencia: 1,0-2,0) **(Gráfica 3 y 4, Apéndice D)**.

Los análisis microbiológicos de junio del 2016 arrojaron resultados similares al anterior: *Aeromonas spp.* y *Pseudomonas spp.*, los cuales fueron sensibles a cefuroxima y amikacina.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

El estudio micológico determinó presencia de *Scedorporium apiospemum*, el cual fue tratado con anfotericina B tópica, según el resultado del antimicograma (sensible a anfotericina B y voriconazol) (**Apéndice F**).

En el 2017, los valores hematológicos se normalizaron (**ver Tabla 4 y gráficas de bioquímica sanguínea 2017 en Apéndice D**), a la par de que la herida fue cicatrizando y evolucionando favorablemente (**Foto 11**).

Tabla 1. Resultados hematológicos enero 2016 a junio 2016.

	Unidades	Valores de referencia*	01-16		02-16	03-16	04-16	05-16	06-16
RBC	x 10 ⁶ µL	0,24-0,55	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3
WBC	x /µL	1178,8-8259,6	10000	9800	9800	9600	9800	10000	9800
PCV	%	21,4-36,6	20	24	29	34	36	37	31
Heterófilos	x /µL	621,5-4317,8	8245	8365	8120	8293	8621	8623	8132
Linfocitos	x /µL	221,1-1924,8	1523	1435	1548	1307	1178	954	1425
Eosinófilos	x /µL	96,1-1831,0	232	0	132	0	0	423	243
Monocitos	x /µL	15,4-1494,3	0	0	0	0	0	0	0
Basófilos	x /µL	0,0-45,3	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 2. Resultados hematológicos julio 2016 a diciembre 2016.

	Unidades	Valores de referencia	07-16	08-16	09-16	10-16	11-16	12-16
RBC	x 10 ⁶ µL	0,24-0,55	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3
WBC	x /µL	1178,8-8259,6	8600	8400	8400	8100	8000	8000
PCV	%	21,4-36,6	32	32	33	33	32	32
Heterófilos	x /µL	621,5-4317,8	7654	7286	6298	6634	5928	5534
Linfocitos	x /µL	221,1-1924,8	946	878	1646	1466	1927	1816
Eosinófilos	x /µL	96,1-1831,0	0	236	189	0	145	465
Monocitos	x /µL	15,4-1494,3	0	0	267	0	0	185
Basófilos	x /µL	0,0-45,3	0	0	0	0	0	0

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Tabla 3. Resultados hematológicos enero 2017 a junio 2017.

	Unidades	Valores de referencia	01-17	02-17	03-17	04-17	05-17	06-17
RBC	x 10 ⁶ μL	0,24-0,55	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
WBC	x /μL	1178,8-8259,6	8200	8200	8600	8600	7800	8000
PCV	%	21,4-36,6	32	32	33	33	32	32
Heterófilos	x /μL	621,5-4317,8	5624	4896	4674	4439	4256	4432
Linfocitos	x /μL	221,1-1924,8	2303	3081	3423	3632	3409	3132
Eosinófilos	x /μL	96,1-1831,0	231	186	143	106	112	173
Monocitos	x /μL	15,4-1494,3	0	0	360	423	0	263
Basófilos	x /μL	0,0-45,3	42	37	0	0	23	0

Tabla 4. Resultados hematológicos julio 2017 a diciembre 2017.

	Unidades	Valores de referencia	07-17	08-17	09-17	10-17	11-17	12-17
RBC	x 10 ⁶ μL	0,24-0,55	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3
WBC	x /μL	1178,8-8259,6	7600	7800	7600	7600	7600	7800
PCV	%	21,4-36,6	32	32	33	32	32	32
Heterófilos	x /μL	621,5-4317,8	4329	4432	4631	4896	4467	4357
Linfocitos	x /μL	221,1-1924,8	1800	1848	1769	1835	1877	1880
Eosinófilos	x /μL	96,1-1831,0	132	1094	546	441	561	1040
Monocitos	x /μL	15,4-1494,3	1311	426	629	385	657	480
Basófilos	x /μL	0,0-45,3	28	0	25	43	38	43

* Santos y col., 2009. Valores hematológicos de tartarugas marinhas *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) juvenis selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. **(Apéndice C).**



Foto 11: Evolución del paciente: notoria regeneración del caparazón.

4. Discusión

En este trabajo, no solo se pudo elaborar un protocolo para la toma de muestra de sangre en tortugas marinas, sino también se pudo describir y aplicar diferentes técnicas de laboratorio especie específica, realizando un valioso aporte para quienes trabajan con esta especie animal y contribuyendo a la escasa bibliografía existente sobre especies exóticas.

En referencia a la recolección de sangre (sitio de venopunción, el uso de restricción manual o química), Cortez, 2015, considera que la técnica de muestreo puede influenciar notablemente los resultados hematológicos, una estandarización de la metodología empleada puede ayudar a lograr resultados comparables.

La técnica de toma de muestra de sangre de los senos cérico dorsales fue el sitio de elección, cuando lo comparamos con la vena coccígea dorsal y yugular externa; esta maniobra permitió reducir el estrés y el riesgo de una lesión permanente de las paredes venosas. Requiere poco equipamiento y se obtiene una muestra sanguínea pura (sin contenido linfático) y de un volumen considerable, coincidiendo con lo descrito por Owens y Ruiz, 1980.

La mayoría de los trabajos publicados utilizan la heparina de sodio o de litio como anticoagulante de elección en hematología de reptiles (Sykes y Klaphake, 2008; Lawrence, 1985). El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) puede causar lisis de los eritrocitos en algunas especies de tortugas (Muro y Cuenca, 1998). El EDTA produce un efecto variable en el hematocrito en función de la cantidad utilizada, pudiendo además provocar lisis de eritrocitos en algunas especies, modificando el recuento y los valores del hematocrito y la hemoglobina (Molina y col., 2002). El uso del EDTA como anticoagulante, no está indicado para reptiles, pues promueve alteraciones en el calcio y potasio celulares a través de hemolisis (Raphael, 2003). El citrato se ha demostrado que provoca cristalización de la hemoglobina en la mayoría de especies, provocando eritrolisis y otras alteraciones de forma que dificultan el análisis citológico. La heparina a razón de 1-3 mg/ml se considera el anticoagulante de elección en muchas especies de reptiles (principalmente en quelonios) (Molina y col., 2002). Sin embargo, la heparina de litio puede causar aglutinación de leucocitos y trombocitos y crear un tinte azul en los frotis sanguíneos, lo que dificulta la evaluación de la morfología celular (Campbell, 2004). Para minimizar estos efectos, es importante que las muestras de sangre se procesen tan pronto como sea posible después

de su colección. En esta experiencia, se llevaron a cabo las recomendaciones citadas previamente y el procesamiento de las muestras hematológicas se realizó manualmente, que es lo recomendado para reptiles debido a la característica nucleada de los eritrocitos. En nuestros procedimientos, ambicionamos disminuir al mínimo los errores para lograr resultados certeros, obtener una correcta interpretación e instaurar un proceder acertado. Debemos resaltar que la fase pre-analítica es crítica para obtener resultados óptimos de los procedimientos empleados.

La presencia de eritrocitos y trombocitos nucleados en la sangre de los vertebrados inferiores impide el uso de los métodos automatizados para el recuento de glóbulos blancos utilizados en sangre de mamíferos (Ithaca, 2004). Por lo tanto, el recuento total de glóbulos blancos en vertebrados inferiores es determinado, ya sea por el método indirecto en el que se utiliza una tinción con phloxine B o el método directo en hemocitómetro con la coloración de Natt y Herrick (Ithaca, 2004).

Los frotis sanguíneos se usan para el recuento diferencial de leucocitos, pero también son importantes para la evaluación de la morfología celular y la presencia de parásitos sanguíneos. Para evitar los artefactos que generan los anticoagulantes, los frotis deben prepararse con sangre fresca inmediatamente después de la recolección, como fue mencionado anteriormente (Strik y col., 2007).

La anemia en reptiles está relacionada con: pérdida de la sangre, infecciones crónicas, desnutrición y exposición a toxinas (Cortez, 20015). En nuestro paciente, se relacionó la anemia que expuso en el primer cuadro hematológico, con la pérdida severa de sangre que sufrió el animal durante el incidente que lesionó su caparazón, y la posterior infección de la herida que ocasionó un incremento en los valores leucocitarios. La presencia de un mayor número de leucocitos inmaduros, denominado comúnmente como desviación a la izquierda, generalmente se asocia con inflamación e infección severa (heterófilos) y/o enfermedades infecciosas resultantes de una estimulación antigénica con incremento de linfocitos y células plasmáticas (Lawrence, 1985).

Los signos de una respuesta regenerativa se deben detectar en los frotis de sangre para diferenciar una anemia regenerativa de una no regenerativa. Los signos típicos de regeneración son policromasia, mitosis eritrocítica, anisocitosis y la presencia de eritrocitos inmaduros como los rubriblastos. Sin embargo, debido a que la respuesta de los reptiles es particularmente lenta en comparación con los mamíferos, se requirió de hasta 30 días para que estos signos se hicieran notorios y hasta 8 semanas para lograr una regeneración

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

máxima (Jacobson, 2007). Esta demora puede estar relacionada con el largo tiempo de desarrollo de los rubriblastos en la médula ósea y a la larga vida de los glóbulos rojos de los reptiles (Mader, 2006). Por lo general, un proceso anémico se considera no regenerativo si no se observan signos de respuesta antes del primer mes (Jacobson, 2007), tal como evidenciamos en nuestro paciente.

Entre las especies de tortugas marinas y tortugas terrestres que fueron examinadas en el trabajo de Javanbakht y col., 2013, las tortugas acuáticas tienen eritrocitos y núcleos más grandes que las tortugas terrestres.

La anemia regenerativa que evidenciamos en el paciente y su posterior recuperación nos indicó un pronóstico favorable del animal, donde mes a mes los valores se fueron estabilizando y manteniendo en el tiempo.

La alaninaminotransferasa (ALT) no es específica de ningún órgano en particular en los reptiles (Divers, 2000), por esta razón no fue evaluada en esta experiencia.

La actividad de LDH en plasma también se considera que tiene una amplia distribución en tejidos de reptiles. Por lo tanto, los aumentos en la actividad de la LDH en el plasma (> 1000 UI / L) pueden estar asociados con daños en el hígado, el músculo esquelético o cardíaco.

La CK se considera una enzima específica del músculo y se usa para evaluar el daño de dichas fibras. La lesión muscular también produce un aumento de leve a moderado en las actividades de AST y LDH en plasma.

Actividades elevadas de AST, LDH y CK en plasma pueden estar relacionadas a daño hepático y muscular, como ocurre ante un trauma o septicemia, (Mader, 2008). Esto mismo evidenciamos en nuestro paciente, quien desarrolló una septicemia posterior a la lesión del caparazón.

Las tortugas marinas excretan ácido úrico, amoníaco y urea (Dantzler, 1996). Aunque los riñones de los reptiles tienen actividades moderadas de deshidrogenasa láctica (LDH), aspartatoaminotransferasa (AST), alaninaaminotransferasa (ALT) y creatinquinasa (CK), las actividades plasmáticas de estas enzimas no aumentan con la enfermedad renal. En cambio, la detección de enfermedad renal en reptiles se relaciona con las concentraciones del ácido úrico (Mader, 2006). La hiperuricemia puede estar asociada a una dieta elevada en proteínas, deshidratación o enfermedad renal (Stahl, 2006).

Las concentraciones plasmáticas de urea y creatinina en reptiles son consideradas de poca importancia práctica para el monitoreo de la fisiología hepática y renal por dos

motivos: primero, la mayoría de los reptiles son uricotélicos, como en el caso de la tortuga verde; y en segundo lugar, los reptiles con enfermedad renal presentan frecuentemente valores normales de urea y creatinina. Los niveles de ácido úrico no aumentarán significativamente hasta que no haya un daño renal extenso. Dentro de las determinaciones citadas anteriormente la concentración de ácido úrico parece ser el indicador más confiable en la enfermedad renal (Divers y col., 1996).

Los niveles de creatinina se elevan cuando el individuo presenta deshidratación severa, sin embargo, generalmente es un indicador de poco valor diagnóstico de enfermedad renal en reptiles, ya que pueden no estar elevada en la insuficiencia renal (Campbell, 1996). Como se evidenció en el paciente en estudio, el valor de la creatinina aumentó durante los primeros meses, relacionado con la deshidratación que presentó el animal al ingreso, este valor se fue normalizando durante el proceso de rehabilitación, como se ve reflejado en las Gráficas 1 y 2 (Apéndice D).

El ácido úrico es uno de los indicadores que se encuentran aumentados en caso de deshidratación (Divers, 2000). Niveles elevados de ácido úrico, también pueden indicar insuficiencia renal o estar relacionados con diversas condiciones, incluyendo septicemias (Wallach y Boever, 1983). Los valores de ácido úrico que presentó nuestro paciente al ingreso al centro de rehabilitación, fueron cercanos al límite superior, debido a la septicemia causada por la profunda lesión en el caparazón. A medida que se controló la septicemia y el animal se estabilizó, el valor de ácido úrico disminuyó (Gráfica 3 y 4, Apéndice D).

La hipoproteinemia está comúnmente asociada a malnutrición crónica en reptiles. Sin embargo, otras causas como mal absorción, mal digestión, pérdida de proteínas enteropatías (ejemplo, parasitismo), pérdida severa de sangre y enfermedad hepática y renal crónica, deberían ser consideradas (Mader, 2008). La disminución de las proteínas totales en nuestro paciente a su ingreso a la clínica se agravó por la falta de ingesta y el parasitismo; posteriormente y en forma paulatina se fueron normalizando, como resultado del tratamiento.

La hipoglucemia en reptiles puede asociarse a malnutrición, inanición y septicemia. (Mader 2008). En nuestro paciente, corroboramos esta afirmación con el resultado de la curva de glucosa presentada en las Gráficas 17 y 18 (Apéndice D). Tanto la hipoglucemia como la hiperglucemia son comunes en las tortugas marinas enfermas.

En contraste con muchos otros vertebrados, las tortugas marinas sanas a menudo tienen concentraciones plasmáticas de calcio totales más bajas y comúnmente tienen una

relación inversa de calcio/fósforo. En mamíferos, cerca de la mitad del calcio está en la forma ionizada, mientras que la otra mitad está ligada a proteínas plasmáticas, principalmente albúmina. Al cuantificarse el calcio en una muestra de sangre, se evalúa sólo la fracción asociada a las proteínas plasmáticas. De esta forma, la concentración sérica de este mineral está directamente relacionada a las proteínas plasmáticas totales. Se cree que esta información también, es válida para reptiles (Mader, 2000). La hipocalcemia puede ser causada por deficiencia de vitamina D, falta de exposición a la luz solar (radiación ultravioleta), ingestión insuficiente de calcio (Wilkinson, 2004), hipoalbuminemia o hipoparatiroidismo (Campbell, 2004). Durante el 2016, el animal presentó hipocalcemia, la cual se asoció a la pérdida de gran parte de su caparazón y a una dieta deficiente. Con suplementos dietarios se pudo paulatinamente llegar a normalizar y estabilizar este valor en el tiempo (Gráficas 13 y 14 en Apéndice D).

Durante el 2016 el fósforo se mantuvo alto, llegando a bajar notablemente en el 2017. Está reportado que la hiperfosfatemia, además, es indicativa de excesos de fósforo dietario, hiper o hipo vitaminosis D₃, enfermedad renal o trauma severo (Mader, 2008), que pudo ser causado por la desmineralización que presento nuestro paciente por la fractura múltiple en su caparazón.

Tal como se reporta en otros estudios (Brenner, 2002), el aumento de fósforo pudo ser ocasionado también por la deshidratación del animal que se evidenció por hundimiento de los ojos del paciente.

Las enfermedades infecciosas, son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en reptiles. Muchas de estas enfermedades se pueden tratar con éxito si se reconocen a tiempo. Las enfermedades infecciosas son, casi siempre, el resultado de una inmunosupresión en reptiles (Tangredi y Evans, 1997) y esto a menudo se asocia con el estrés del cautiverio. Las bacterias Gram-negativas son los patógenos más comunes hallados (Cooper, 1981; Draper y col., 1981). Este hecho no es sorprendente porque las bacterias Gram-negativas se aíslan comúnmente en reptiles sanos (Johnson y Benson, 1996) Las bacterias Gran-positivas rara vez se asocian con la enfermedad (Plowman, y col., 1987). Es importante recordar que la falta de aislamiento de un determinado microorganismo no lo descarta como una posible causa de la enfermedad (Heard, 2004).

El examen macroscópico e histológico de lesiones de órganos generalmente proporciona, junto a tinciones de Gram de impronta de los mismos, la primera evidencia de enfermedad bacteriana o fúngica (Mader, 2008). Las tortugas marinas son comúnmente

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

afectadas por infecciones bacterianas y fúngicas oportunistas, a menudo secundarias a traumas o hipotermia (Hunt y col., 2012). Los microorganismos más comúnmente aislados incluyen diversas bacterias aerobias Gram-negativas: *Pseudomonas*, *Aeromonas*; Gram-positivas *Enterococcus* spp., ácido alcohol resistentes (AAR): *Mycobacterium* spp. y hongos: *Fusarium* spp. (Innis y col., 2014; Nardini y col., 2014; Williams y col., 2012), estos datos concuerdan con nuestros hallazgos en el laboratorio de microbiología, donde se aisló e identificó especies de *Aeromonas* spp y *Pseudomonas* spp.

La tinción de Gram es un procedimiento subutilizado, conveniente y de bajo costo. Mientras el clínico está esperando los resultados del cultivo bacteriano y las pruebas de sensibilidad antimicrobianas, se puede utilizar la tinción de Gram para identificar y cuantificar la presencia de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas recolectadas del sitio de la infección. En el caso de que se pierda el cultivo o los resultados indiquen ausencia de crecimiento, la tinción de Gram proporcionaría un registro del tipo de bacteria presente en la lesión antes de iniciar un tratamiento. Los resultados de la coloración también proporcionan al microbiólogo información crucial para identificar patógenos y seleccionar los medios de cultivo apropiados a utilizar.

En las infecciones de los reptiles, son importantes los cultivos de bacterias y hongos y la susceptibilidad antimicrobiana. Los cultivos microbianos deben incubarse a 37°C y 25°C, debido a que los reptiles son ectotérmicos a diferencia de los mamíferos. Asimismo, debe considerarse la realización de hemocultivos (Hunt y col., 2012). Los métodos moleculares suelen emplearse para la identificación definitiva de microorganismos, tales como micobacterias y hongos, y para la detección del virus del Herpes cheloniano. (Nardini y col., 2014, Donnelly y col., 2015; Stacy y col., 2018).

Pseudomonas spp., especialmente *P. aeruginosa*, se encuentran comúnmente como parte de la microbiota normal en la cavidad oral y el tracto intestinal de los reptiles (Needham, 1986; Dickinson y col., 2001; Hilf, 1990 y Blaylock, 2001). Estos microorganismos, se consideran patógenos oportunistas y frecuentemente se aíslan de lesiones asociadas con la estomatitis ulcerosa, neumonía, dermatitis y septicemia (Branch y col., 1998)

Aeromonas spp. (Generalmente oportunista), se asocia a neumonía, lesiones de la cavidad oral, lesiones cutáneas y septicemia (Keymer, 1978), en pacientes con signos clínicos y crecimiento abundante en los cultivos, haciéndose necesario el tratamiento antibiótico.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Se recomienda la realización de cultivos bacterianos y sensibilidad antimicrobiana cada vez que se evalúen reptiles y antes de iniciar la terapia antimicrobiana (Mader, 2006). La muestra microbiológica de nuestro paciente fue de la lesión profunda que presentaba la tortuga y las bacterias aisladas fueron *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. Los resultados del antibiograma por difusión mostraron sensibilidad a la gentamicina y amikacina, coincidiendo con lo reportado por otros autores (Bauer y col.; 1966). En nuestro caso, con la terapia antibiótica instaurada conjuntamente con la *toilette* periódica de la herida, se logró la evolución satisfactoria del paciente.

Todas las tortugas marinas silvestres tienen una carga natural de endoparásitos y ectoparásitos (Manfredi y col., 1996; Raidal y col., 1998). En un huésped sano, estos raramente causan problemas. Sin embargo, cuando están estresados, con enfermedades, traumas o desequilibrios ambientales, estos parásitos pueden causar patologías (Mader, 2008). Nuestro paciente presentó una carga considerable de endoparásitos, fue tratado oportunamente y con éxito, evitando otras complicaciones que podrían surgir debido al estrés causado por el cautiverio. La mayoría de los clínicos optan por tratar los parásitos de las tortugas marinas solo si clínicamente está indicado, o si la tortuga se mantiene en cautiverio permanente.

Las enfermedades protozoarias que se han descrito en las tortugas marinas hasta el momento son principalmente patógenas del tracto gastrointestinal. Las técnicas de concentración de materia fecal (flotación/sedimentación), ayudan a identificar los huevos de helmintos, incluidos los de los parásitos cardiovasculares, que deben alcanzar la luz del tracto gastrointestinal para acceder al medio ambiente. Los huevos de trematodos cardiovasculares también se pueden recuperar por sedimentación de tejidos que se han digerido con enzimas (Dailey y Morris, 1995, Herbst et al., 1998). La asociación de parásitos con su huésped a menudo tiene una larga historia co-evolutiva y la evidencia de parasitismo es un hallazgo incidental común. La demostración de una patología significativa es necesaria para implicar directamente a parásitos particulares como causa de morbilidad y/o mortalidad. (Eckert y col., 2000).

Los endoparásitos pueden ser un factor que contribuye a la enfermedad en un quelonio ya comprometido y, en algunos casos, pueden ser la causa principal de su debilitación (Norton y col, 2003; George y col., 1997). Como ya mencionara, el estrés, el hacinamiento, la crianza deficiente, las enfermedades infecciosas y las enfermedades inmunocomprometidas pueden provocar graves infestaciones de endoparásitos.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Los trematodos digenéticos de la familia *Spirochidae* encuentran comúnmente en el sistema cardiovascular de las tortugas marinas y de agua dulce, y han sido implicados como una causa de morbilidad y mortalidad. En algunos casos se ubican en el sistema circulatorio y eventualmente quedar atrapado dentro de las arteriolas terminales de los órganos viscerales, extremidades y carapacho (Innis y col., 199, Rideout y col, 1987, Glazebrook y col, 1989). Los signos clínicos pueden ser debilitamiento generalizado, colitis ulcerosa severa, extremidades edematosas por obstrucción vascular y problemas de flotabilidad secundarios a neumonía. En 2001, en el sur de la Florida, se produjo un importante evento de varamiento de tortugas bobas (*Caretta caretta*) en el mar (Zwart y col., 1975). La mayoría de las tortugas presentaron parálisis parcial y muchas sufrieron trastornos secundarios. Los resultados post-mortem revelaron trematodos adultos en el cerebro y la médula espinal. El tratamiento con dosis altas de praziquantel puede ser eficaz para disminuir la gravedad de los signos clínicos, pero no tiene efecto contra los huevos, ya que estos se ubican en los tejidos (Norton, 2005).

Los datos farmacocinéticos para el praziquantel oral en tortugas bobas (*Caretta caretta*) indican un esquema de dosificación de 25 mg/kg administrado tres veces en un día a intervalos de tres horas (Jacobson y col, 2003). En el caso específico de nuestro paciente, los resultados coproparasitológicos fueron compatibles con presencia de *Trematoda digenea*, se realizó un protocolo de desparasitación con praziquantel. Luego del tratamiento se evaluaron nuevamente las heces, siendo el resultado negativo.

En referencia a las micosis, los médicos veterinarios deben tenerlas en cuenta cuando se enfrentan a un paciente con lesiones cutáneas o signos clínicos de enfermedad sistémica inespecífica. Solo a través de cultivos micológicos y examen histopatológico de las biopsias de las lesiones, se puede establecer o descartar un diagnóstico de enfermedad fúngica. La epidemiología de la infección por hongos en reptiles es poco conocida y se necesitan más evidencias para determinar los factores y las condiciones que conducen al inicio de la infección fúngica (Mader, 2008).

S. apiospermum fue aislado de la lesión de caparazón de nuestro paciente. Existen reportes sobre aislamientos de *S. apiospermum* de cáscaras de huevos y de cloaca de la tortuga marina (*Chelonia mydas*), por lo que nuestro hallazgo coincide con lo descrito sobre la capacidad del hongo para vivir en ambientes salinos (Williamson y col, 2004).

Las infecciones por *S. apiospermum* suelen adquirirse a raíz de un traumatismo o herida penetrante, frecuentemente tras la contaminación con suelo o estiércol. También

puede ocurrir en contextos de cirugía y procedimientos instrumentales como raquianestesia, inmersión accidental en aguas contaminadas, neutropenia, enfermedad granulomatosa crónica de la infancia en humanos, e inmunosupresión (San Juan y col., 2003). La presencia de este hongo en el caparazón, se relacionó a la fractura múltiple que presentaba y a la posible inmunosupresión del animal como consecuencia del estrés debido a la captura y el cautiverio durante su rehabilitación.

5. Conclusiones

- Los exámenes de laboratorio clínico veterinario (hematología, bioquímica sanguínea, parasitología y microbiología) son herramientas diagnósticas, muy útiles para ayudar y guiar al clínico veterinario durante la rehabilitación de reptiles exóticos como las tortugas marinas.
- De la interpretación de los datos hematológicos y bioquímicos obtenidos durante el año 2017, pudimos considerar que se logró la estabilidad del paciente. Estos resultados intentan contribuir con la bibliografía en esta especie.
- El trabajo en cooperación con un laboratorio especializado, nos ayudó a identificar el agente causal de una infección fúngica, de la cual hay muy poca bibliografía en esta especie, y constituye el punto de partida para continuar con investigaciones sobre la misma.
- Durante el transcurso de esta experiencia, se realizaron charlas, seminarios y presentaciones a Congresos, donde se discutieron los resultados de los análisis de laboratorio y los posibles tratamientos, fomentando el trabajo interdisciplinario en equipo, con el fin de obtener los mejores logros en pos de nuestro paciente.

6. Bibliografía:

- Anderson, E.T., Harms, C.A., Stringer, E.M., Cluse, W.MM (2011). Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (*Cheloniemydas*) in North Carolina, USA. J Zoo Wildl Med 42, 247-255.
- Arıkan, H., Çiçek, K. (2011). Morphology of peripheral blood cells from various species of Turkish Herpetofauna. Acta Herpetologica 5(2): 179-198.
- Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M., (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45, 493-496.
- Blaylock R, (2001). Normal oral bacteria I flora from some southern African snakes, Onderstepoort J Vet Res 68:175-182.
- Branch S, Hall L, Blackshear P, et al (1998). Infectious dermatitis in a ball python (*Python regius*) colony, J Zoo Wildl Med 29:461-464.
- Brenner, D., Lewbart, G., Stebbins, M., & Herman, D. W. (2002). Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(4), 311-317.
- Campbell, T. W. (1996). Clinical pathology. In 'Reptile Medicine and Surgery' (Ed. DR Mader.) pp. 248–257.
- Campbell TW (2004). Hematology of lower vertebrates. Procedente de la 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), ACVP and ASVCP; Middleton, USA.
- Casal, A.B., Orós, J., (2009). Plasma biochemistry and haematology values in juvenile loggerhead sea turtles undergoing rehabilitation. Vet Rec 164, 663-665.
- Christopher, M.M., Berry, K.H., Wallis, I.R. et al, (1999). Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the mojave desert. J Wild Dis; 35, 212-238.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2016. M100S. 26th Edition: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, Pensilvania, EE. UU.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Cortez Martínez, M. A. (2015). Perfil hemático y presencia de hemoparásitos en reptiles del Parque Zoológico Nacional, El Salvador (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).
- Cooper J: Bacteria. In Cooper JE, Jackson OF, (1981). Diseases of Reptilia, San Diego, Academic Press.
- Dailey, M. D. y R. Morris. (1995). Relationship of parasites (Trematoda: *Spirorchidae*) and their eggs to the occurrence of fibropapillomas in the green turtle (*Cheloniemydas*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 52 (Suplemento 1): 84-89.
- Dantzler WH. (1996). Comparative aspects of renal urate transport. *Kidney Int*;49:1549-1551.
- Dickinson, V.M., Jarchow, J., Trueblood, M.H., (2002). Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona. *J Wild Dis*; 38, 143-153.
- Dickinson V, Duck T, Schwalbe C, et al (2001). Nasal and cloacal bacteria in free ranging desert tortoises from the western United States, *J Wildl Dis* 37:252-257.
- Divers S. (2000). Reptilian renal and reproductive disease diagnosis. In: Fudge A, ed. Laboratory medicine—avian and exotic pets. Philadelphia: WB Saunders, 217-222.
- Donnelly K, Waltzek TB, Wellehan JFX, et al. (2015). *Phaeohyphomycosis* resulting in obstructive tracheitis in three green sea turtles *Cheloniemydas* stranded along the Florida coast. *Dis Aquat Organ*; 113: 257-262
- Draper C, Walker R, Lawler H (1981). Patterns of oral bacterial infection in captive snakes, *J Am Vet Med Assoc* 179:1223.
- Eckert, K. L., Bjørndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A., & Donnelly, M. (2000). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. *Grupo especialista en Tortugas Marinas. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Comisión de Supervivencia de Especies, Publicación, (4)*.
- George RH, (1997). Health problems and diseases of sea turtles, in Lutz PL, Musick JA (eds), *The Biology of Sea Turtles*, Boca Raton, FL, CRC Press, pp. 363-386.
- Glazebrook JS, Campbell RSF, Blair D (1989). Studies on cardiovascular fluke (Digenea: *Spirorchidae*) infections in sea turtles from the Great Barrier Reef, Queensland, Australia. *J CompPath* 101:231.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Holmes JC (1990) Helminth communities in marine fishes. *In*: Esch GW, Bush AO, Aho JM (eds), Parasite Communities: Patterns and Processes. Chapman & Hall, New York, pp 101–130.
- Hoberg EP, Klassen GJ (2002) Revealing the faunal tapestry: co-evolution and historical biogeography of hosts and parasites in marine systems. *Parasitology* 124:3–22.
- Heard, D., Harr, K., Wellehan, J., (2004). Diagnostic sampling and laboratory tests. *In*: Girling, S.J., Raiti, P. (Eds.), Manual of Reptiles. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association, Quedgeley, England, pp. 71-86.
- Herbst L. H. y E. R. Jacobson. (1995). Diseases of marine turtles, p.593-596. *In*: K. A. Bjorndal (Ed tor), Biology and Conservation of Sea Turtles, Edición Revisada. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Hilf M, Wagner R, Yu V (1990). A prospective study of upper airway flora in healthy boid snakes and snakes with pneumonia, *JZWM* 21:318-325.
- Hunt KE, Innis C, Rolland RM. (2012). Corticosterone and thyroxine in cold-stunned Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). *J Zoo Wildl Med*; 43: 479-493.
- Innis, C.J., Tlusty, M., Merigo, C., Weber, E.S., (2007). Metabolic and respiratory status of cold-stunned Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). *Comp Biochem Physiol* 177, 623-630.
- Ithaca NY, 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) and 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), Orlando, FL, USA, ACVP and ASVCP (Eds.). (2004). Publisher: American College of Veterinary Pathologists & American Society for Veterinary Clinical Pathology, Middleton WI, USA. Internet Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org); P1214.1104.
- Javanbakht, H., Vaissi, S., & Parto, P. (2013). The morphological characterization of the blood cells in the three species of turtle and tortoise in Iran. *Research in Zoology*, 3(1).
- Jacobson, E.R., (2007). Infectious diseases and pathology of reptiles. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Johnson J, Benson P. (1996). Laboratory reference values for a group of captive ball pythons (*Python regius*), *Am J Vet Res* 57: 1304-1307.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Keymer I. (1978). Diseases of the chelonians: (2) necropsy survey of terrapins and turtles, Vet Rec 103:577-582.
- Lawrence K. (1985). An introduction to haematology and blood chemistry of the reptilia. En Towson y Lawrence (Ed): Reptiles: breeding,behaviour and veterinary aspects. London. British Herpetological Society. 99-110.
- Lippincott Williams &Willkins, (2000 o 2006). p. 1126-1132, MADER, D. R. Normal hematology of reptiles. In: FELDMAN, B. V.; ZINKL, J. G.; JAIN. N. C. (Ed.). Schalm's veterinary hematology.5. ed. Philadelphia
- Lutz, P.I., Dunbar-Cooper, A., (1987). Variations in the bloodchemistry of the loggerhead sea turtle, *Carettacaretta*. Fishery bulletin 85:37-43.
- Mader R. (2006). Reptile Medicine and Surgury. Saunders Elsevier. Second edition. Marathon, Florida USA 349,801-805; 1103-1019 p.
- Manfredi, M. T., Piccolo, G., Prato, F., & Loria, G. R. (1996). Parasites in Italian sea turtles. I. The leatherback turtle *Dermochelyscoriacea* (Linnaeus, 1766). *Parassitologia*, 38(3), 581-583.
- Mattiello, R; Troiano, JC; Di Girolamo, F; Pereira, C; Maure, P, XVI Congreso Nacional AVEACA (2016). Efecto del uso oral de inmunomoduladores para el tratamiento de la estomatitis ulcerativa en pitones.Reporte de dos casos clínicos. Poster.
- Mattiello, R. Disertante. Primer Congreso Metropolitano sobre Medicina y Conservación de Fauna Silvestre y Animales de Compañía No Convencionales. (2017). CABA- Consejo Profesional de Médicos Veterinarios Terapia regenerativa de una Tortuga verde (*Cheloniamydas*) con lisado embrionario aviar.
- Mattiucci S, Nascetti G, (2007). Genetic diversity and infection leveles of *anisakis*nematodes parasitic in fish and marine mammals from Boreal and Austral hemispheres. Vet Parasitol 148:43–57.
- Mattiucci S, Paoletti M, Webb SC, Sardella N, Timi J, Berland B, Nascetti G. (2008). Genetic relationships among species of *Contracaecum*, Railliet and Henry, 1912 and *Phocascaris* Host, 1932 (Nematoda: *Anisakidae*) from pinnipedsbased on mitochondrial cox2 sequences and cogruence with allozyme data. Parasitè 15(3), in press.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Martínez-Silvestre A. (2011). Hematología y bioquímica sanguínea en tres especies de lagartos gigantes de las Islas Canarias (género *Gallotia*). 1-215. Facultad de Veterinaria. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Molina, J.; Grifols J.; Martínez A.; Padros F. (2002). MEMORIX Medicina de Animales exóticos. Editores Médicos S.A (EDIMASA). Madrid, ES. 215, 256,266-269 p.
- Muro J, Cuenca R, Pastor J, Viñas L, Lavín S. (1998). Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). J Zoo Wildl Med; 29, 40-44.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard NCCLS document M38-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards 2002.
- Nardini G, Florio D, Di Girolamo N, et al. (2014). Disseminated mycobacteriosis in a stranded loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). J Zoo Wildl Med 2014; 45: 357-360.
- Norton TM, Lung N, Tabaka C, et al. (2003). Medical management of *Manouria emysemys* confiscated from Hong Kong. Scientific Proceedings, Annual Conference of the IUCN Turtle Survival Alliance. Orlando Florida, IUCN Turtle Survival Alliance.
- Norton, T. M. (2005). Chelonian emergency and critical care. In *Seminars in avian and exotic pet medicine* (Vol. 14, No. 2, pp. 106-130). WB Saunders.
- Williams SR, Sims MA, Roth-Johnson L, et al. (2012). Surgical removal of an abscess associated with *Fusarium solani* from a Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). J Zoo Wildl Med; 43: 402-406.
- Needham J. (1986). Microbiology and captive reptiles, Acta Zoo Pathol Antverpiensia 79:33-38.
- Owens, D.; Ruiz, G., (1980). New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. Herpetol 36: 17-20.
- Perpiñán D, Hernández-Divers SM, McBride M, Hernández-Divers SJ. (2006). Comparison of three different techniques to produce blood smears from green iguanas, *Iguana iguana*. J Herpet Med Surg; 16: 99-101.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Plowman C, Montali R, Phillips L, et al. (1987). Septicemia and chronic abscesses in iguanas (*Cycluracornuta* and *Iguana iguana*) associated with a *Neisseria* species, J Zoo Anim Med 18:86-93.
- Prado, W.S., Waller, T., Albareda, D.A., Cabrera, M.R., Etchepare, E.G., Giraudo, A.R. & Richard, E., (2012). Categorización del estado de conservación de las tortugas de la República Argentina. Cuadernos de herpetología, 26.
- Raphael, B. L. (2003). Chelonians (turtles, tortoises). Zoo and Wild Animal Medicine. Saunders, St. Louis, Missouri, 48-58.
- Raidal, S. R., Ohara, M., Hobbs, R. P., & Prince, R. I. T. (1998). Gram - negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green sea turtles (*Cheloniemydas*). *Australian Veterinary Journal*, 76(6), 415-417.
- Rideout BA, Montali RJ, Phillips LJ, et al. (1987). Mortality of captive tortoises due to viviparous nematodes of the genus *Proatractis* (family Atractidae). J WildDis 23:103-108.
- San Juan, R., Berenguer, J., & Aguado, J. M. (2003). Hongos filamentosos emergentes: *Scedosporium*. *Revisión temática. Control de Calidad SEIMC*.
- Santos, M., Ferreira, L., Batistote, C., Grossman, A., & Bellini, C. (2009). Valores hematológicos de tartarugas marinhas *Cheloniemydas* (Linnaeus, 1758) juvenis selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 46(6), 491-499.
- Santoro, M., & Mattiucci, S., (2009). Sea turtle parasites. In *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America* (pp. 507-519). Springer, Dordrecht.
- Sloss, M. (1994). Veterinary Clinical Parasitology. 6th ed. America. Pp. 10-16.
- Stacy NI, Alleman AR, Sayler KKA (2011). Diagnostic hematology of reptiles. ClinLabMed. 31(1):87- 108.
- Stacy BA, Pessier AP, (2007). Host response to infectious agents and identification of pathogens in tissue sections. En: Infectious diseases and pathology of reptiles. Boca Raton: E.R. Jacobson; p.260.
- Strik NI, Alleman AR, Harr KE (2007). Circulating inflammatory cells. En: Jacobson ER (ed): Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text, Cabo Raton, Florida, CRC Press; 167-218.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

- Stahl, S. J. (2006). Reptile hematology and serum chemistry. In *Proc No Amer Vet Conf* (pp. 1673-1676).
- Sham, D., (1996). The role of clinical microbiology in the control and surveillance of antimicrobial resistance. *ASM News*; 62: 25-9.
- Sykes JM, Klaphake E. (2008). Reptile hematology. *Vet Clin of North America: Exotic Anim Pract*; 11, 481-500.
- Tangredi B, Evans R. (1997). Organochlorine pesticides associated with ocular, nasal, or otic infection in the eastern box turtle (*Terrapene Carolina carolina*), *J Zoo Wild Med* 28:97-100.
- Velásquez, J. C., Cartagena, H. N., Bolaño, C. R., Otero, G. Á., Pacheco, J. C., & Arias, J. L. (2014). Caracterización hematológica de hicoteas (*Trachemys callirostris* Gray, 1856) en Córdoba, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (28), 43-55.
- Williams SR, Sims MA, Roth-Johnson L, et al. (2012). Surgical removal of an abscess associated with *Fusarium solani* from a Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*). *J Zoo Wildl Med*; 43: 402–406.
- Williamson ECM, Speers D, Arthur IH, Ryan G, Inglis TJJ, Arthur IANH, et al. (2001). Molecular Epidemiology of *Scedosporium apiospermum* Infection Determined by PCR Amplification of Ribosomal Intergenic Spacer Sequences in Patients with Chronic Lung Disease. *J Clin Microbiol*; 39(1):47–50.
- Wallach, J. D., & Boever, W. J. (1983). Diseases of exotic animals. Medical and surgical management. WB Saunders.
- Wiliknson R. Clinical pathology. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, editors. (2004). *Medicine and surgery of tortoises and turtles*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. p. 141–86.
- Wyneken, J., & Witherington, D., (2001). *The anatomy of sea turtles* (p. 172). National Marine Fisheries Service.
- Zhang, F., Hexiang G.U., Pipeng L.I. (2011): A Review of Chelonian Hematology. *Asian Herpetological Research* 2(1): 12- 20.
- Zwart P, Truyens HA (1975). Hexamitiasis in tortoises. *Vet. Parasitol* 1:175-183.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

7. Apéndice:

Apéndice A:

Drug	Dose	Route	Frequency	Reference	Comment
Amikacin	2.5-10 mg/kg	IM, IV	q3d	Innis et al. 2014	
Amoxicillin	30 mg/kg	PO	SID	Innis et al. 2014	
Amoxicillin/clavulanate	5-30 mg/kg	PO	SID	Manire et al. 2008; Innis et al. 2014	
Ampicillin	5-30 mg/kg	IM, PO	SID	Kelly et al. 2005; Innis et al. 2014	C. Manire unpub. data
Ampicillin/sulbactam	10 mg/kg	IM	SID	Manire et al. 2008	
Atropine	0.02-0.05 mg/kg	IM, IV			Clinical use by the authors
Azithromycin	5 mg/kg	PO	EOD	Harms et al. 2002	Efficacy questionable in light of data for clarithromycin, but plasma concentrations not documented
Calcium carbonate	25 mg/kg	PO	SID		Clinical use by the authors
Calcium gluconate	50 - 100 mg/kg	IM, SC			Clinical use by the authors
Carprofen	1-2 mg/kg	IM, PO			Used q3d with apparent safety but efficacy and dosing interval are unproven; C. Innis upub. data
Ceftazidime	22 mg/kg	IM	q3d	Stamper et al. 1999; Innis et al. 2011	
Ciprofloxacin	10 mg/kg	PO	EOD		Clinical use by the authors
Cisapride	1 mg/kg	PO	SID		Clinical use by the authors
Clarithromycin	15-20 mg/kg	PO	q3d	Innis 2014	Subtherapeutic at published dose; not recommended
Clindamycin	10 mg/kg	PO, IM, IV		Harms et al. 2011	Subtherapeutic at published dose; not recommended
Copper sulfate	0.2 mg/l	bath	up to 3 weeks		External parasites; C. Innis unpub. data
Cyproheptadine	1 mg/kg	PO	q3d		Clinical use by the authors
Danofloxacin	6 mg/kg	IM	EOD	Marin et al. 2008	
Dexamethasone sodium phosphate	0.25 mg/kg	SC, IM, IV	SID to BID		Clinical use by the authors, immunosuppressive dose
Dexamethasone sodium phosphate	0.1 mg/kg	SC, IM, IV	SID to BID		anti-inflammatory dose
Dextrose	250-500 mg/kg	SC, IV			Dilute to 2.5% for SC. Dilute to 5 to 10% if practical and depending on

Charles Innis, Joe Flanagan, Terry Norton, september 24, 2017 INTRODUCTION TO SEA TURTLE MEDICINE, Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Diazepam	0.1-0.15 mg/kg	IM, PO			As appetite stimulant; C. Manire unpub. data
Dimetridazole	50-100 mg/kg	PO	SID x 10d	Reme 1980	
Diphenhydramine	2 mg/kg	IM	q24h	Manire et al. 2013	
Doxapram	5-10 mg/kg	IM, IV			Clinical use by the authors
Doxycycline	10-20 mg/kg	PO	SID-q4d	Manire et al. 2002	Clinical use by the authors
Enrofloxacin	20 mg/kg	PO	q7d	Jacobson et al. 2005	Loggerhead turtles
Enrofloxacin	20 mg/kg	PO, SC	q3d	Innis et al. 2014	Clinical use in Kemp's ridley and green turtles with apparent therapeutic effect but no PK data; C. Innis unpub. data
Enrofloxacin	5 mg/kg	PO	SID		Clinical use in Kemp's ridley and green turtles with therapeutic effect but no PK data; T. Norton unpub. data
Epinephrine	0.05-0.1 mg/kg	IM, IV		Goe et al. 2015	Clinical use by the authors
Erythropoietin	50 U/kg	SC	q3d		Perry and Mader 2015
Erythropoietin	100-200 U/kg	SC	SID for 3 days, then EOD until immature erythrocytes are noted		Clinical use by the authors
Famotidine	2 mg/kg	PO, IM	SID		Clinical use by the authors
Fenbendazole	25-100 mg/kg	PO	q7-14d		Clinical use by the authors
Fenbendazole	25-50 mg/kg	PO	SID x 3-5d		Clinical use by the authors
Florfenicol	30 mg/kg	IM, IV		Stamper et al. 2003	Subtherapeutic at published dose; not recommended
Fluconazole	21 mg/kg loading dose, then 10 mg/kg	SC	q5d	Mallo et al. 2002; Innis et al. 2011	
Flunixin meglumine	0.5-1 mg/kg	IM			Adverse effect of GI bleeding suspected by some clinicians (D. Mader pers. com.). Used safely for one dose in several cases but efficacy and dosing interval are unproven; C. Innis, unpub. data
Furosemide	2-5 mg/kg	IM		Manire et al. 2013	Clinical use by the authors
Gentamicin	2.5 mg/kg	IM	q3d	Innis et al. 2014; Innis 2014	
Praziquantel	25 mg/kg	PO	q3h x 3 in one day	Jacobson et al 2003	For spirorchid trematodes; some clinicians deliver these three doses in a 24h period; C. Manire, unpub. data
Praziquantel	5-10 mg/kg	PO	q 2 weeks		For cestodes; clinical use by the authors

Charles Innis, Joe Flanagan, Terry Norton, september 24, 2017 INTRODUCTION TO SEA TURTLE MEDICINE, Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians.

Apéndice B:

La solución de Herrick (1952):

- 3,88 g de cloruro de sodio.
- 2,50 g de sulfato de sodio.
- 1,74 g de sodio fosfato.
- 0,25 g de fosfato de potasio.
- 7,5 ml de formalina (37%).
- 0,10 g de violeta de metilo.

La mezcla se diluye a 1000 ml de agua destilada y se filtra. El diluyente para el recuento de leucocitos descrito por Natt y Herrick (1952) es adecuado para todos los vertebrados no mamíferos (Arıkan y Çiçek, 2014).

Arıkan, H., & Cicek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: A review. *North-Western journal of zoology*, 10(1).

Universidade Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Apêndice C:

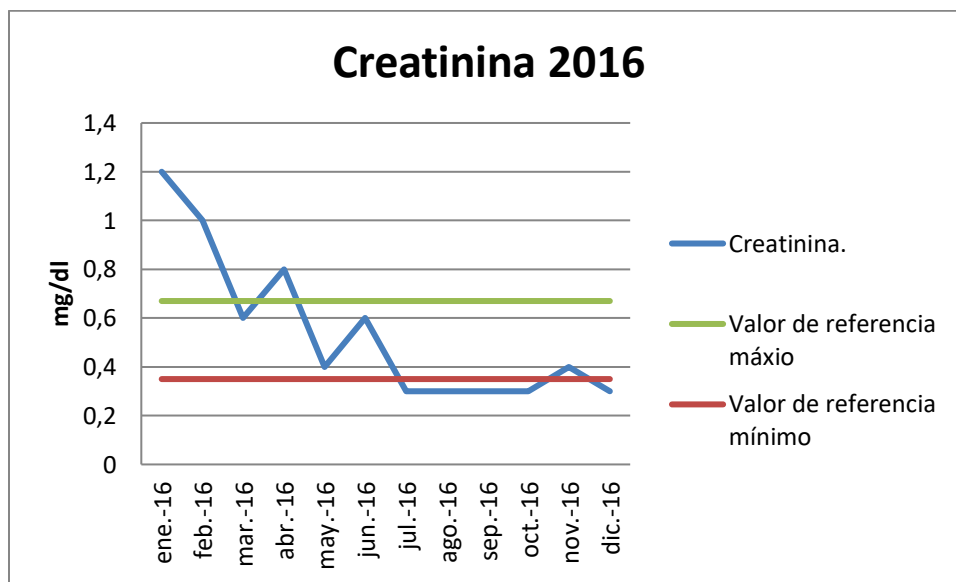
Tabela 1 - Valores de referência para eritrograma (n=60) e leucograma (n=59) de *Chelonia mydas*, juvenis, selvagens aparentemente saudáveis do Arquipélago de Fernando de Noronha, - Pernambuco, Brasil – 2003

Parâmetros	Média ± DP	Intervalo de Referência
Hematócrito (%)	29,0 ± 3,9	21,4 a 36,6
Hemácias (x10 ⁶ /μl)	0,399 ± 0,079	0,244 a 0,554
Hemoglobina (g/dl)	10,0 ± 2,0	5,9 a 14,0
VCM (fl)	743,2 ± 123,9	500,4 a 986,1
HCM (pg)	255,6 ± 56,9	144,0 a 367,1
CHCM (g/dl)	34,4 ± 5,4	23,7 a 45,1
Leucócitos(/μl)	3553,5 ± 1920,5	1178,8 a 8259,6
Monócitos (/μl)	333,6 ± 501,3	15,4 a 1494,3
Linfócitos (/μl)	712,8 ± 431,4	221,1 a 1924,8
Heterófilos (/μl)	1926,7 ± 912,0	621,5 a 4317,8
Eosinófilos (/μl)	575,9 ± 440,0	96,1 a 1831,0
Basófilos (/μl)	4,8 ± 16,5	0,0 a 45,3
Trombócitos (/μl)	20535,3 ± 9651,7	9513,2 a 36316,5

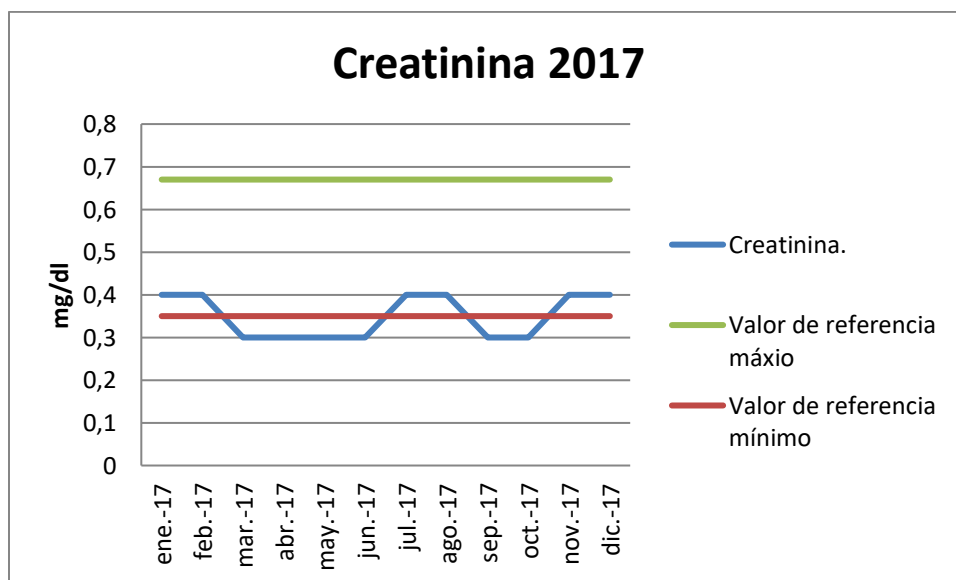
Santos y col., 2009. Valores hematológicos de tartarugasmarinhas *Cheloniemydas* (Linnaeus, 1758) juvenil selvagens do Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil.

Apéndice D:

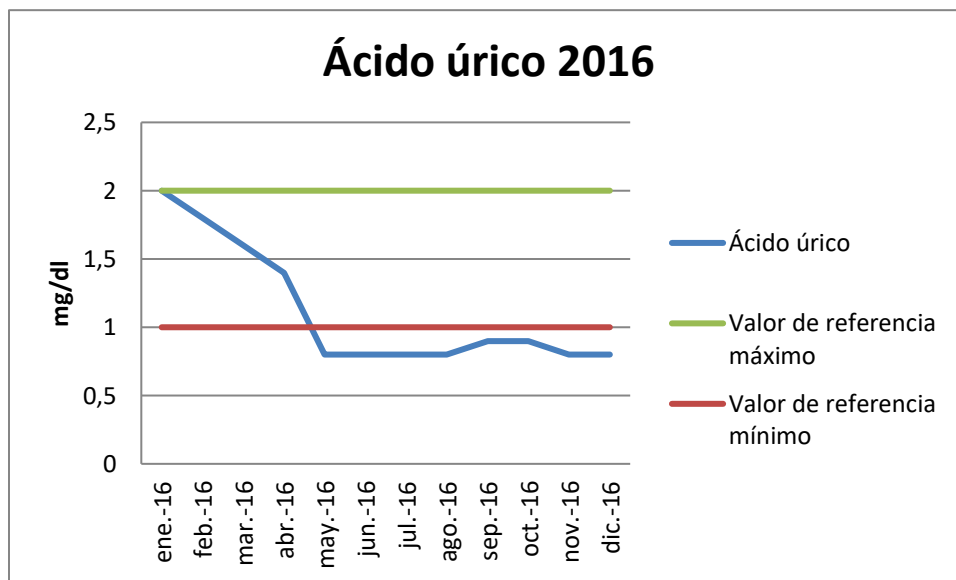
Gráfica 1. Creatinina 2016.



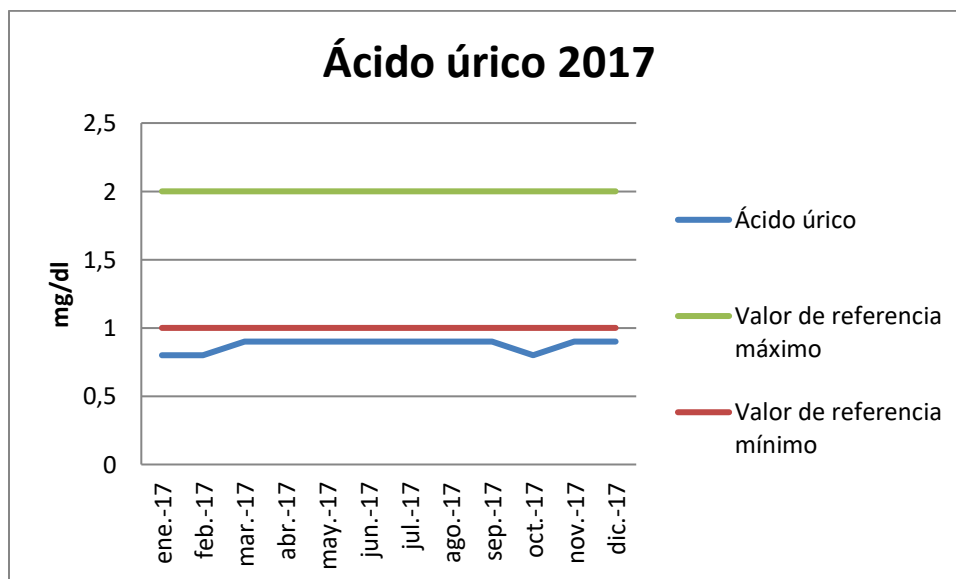
Gráfica 2. Creatinina 2017.



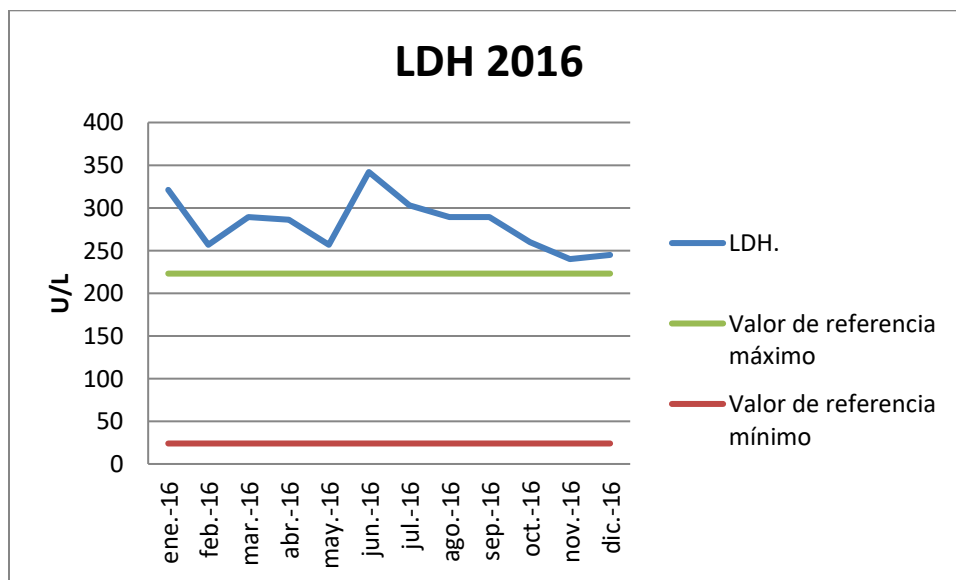
Gráfica 3. Ácido úrico 2016.



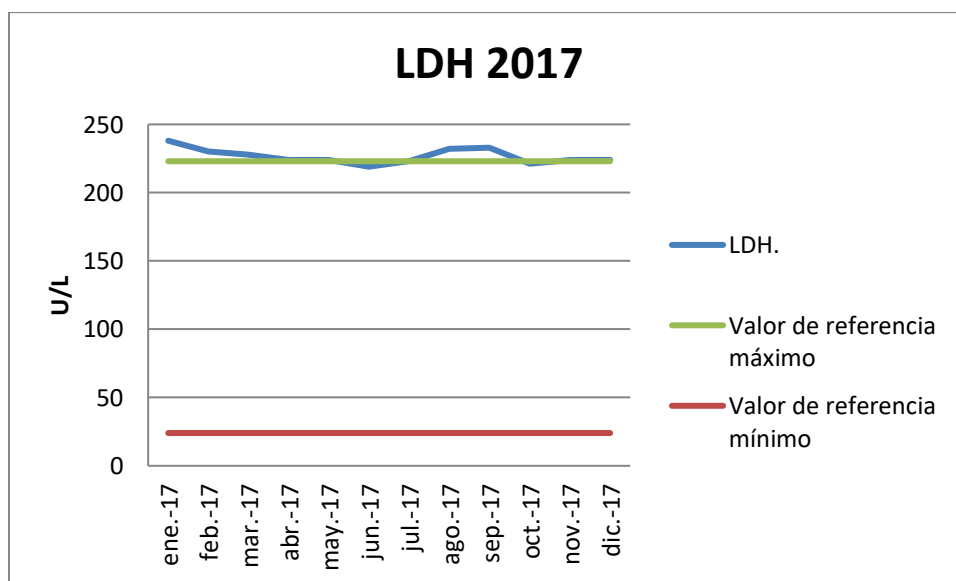
Gráfica 4. Ácido úrico 2017.



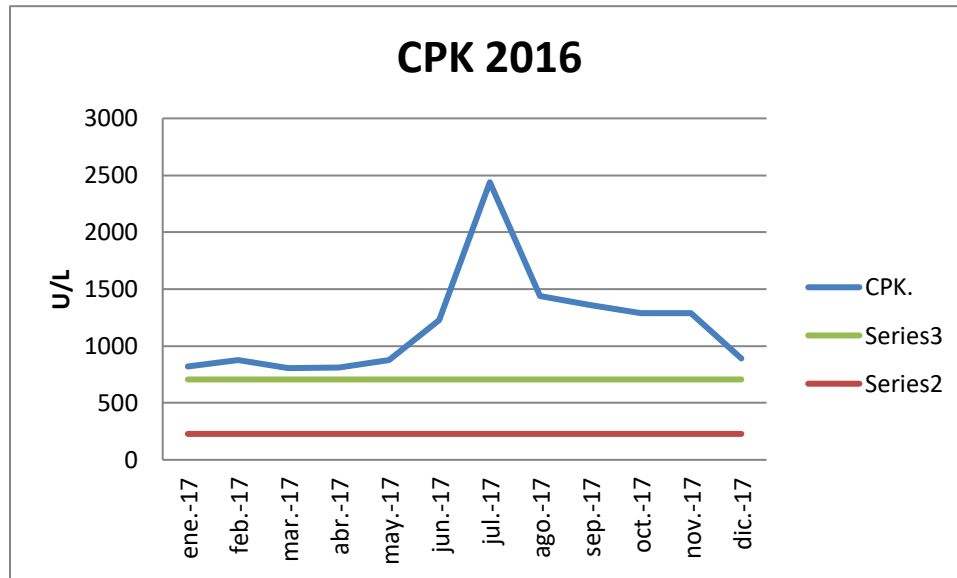
Gráfica 5. LDH 2016.



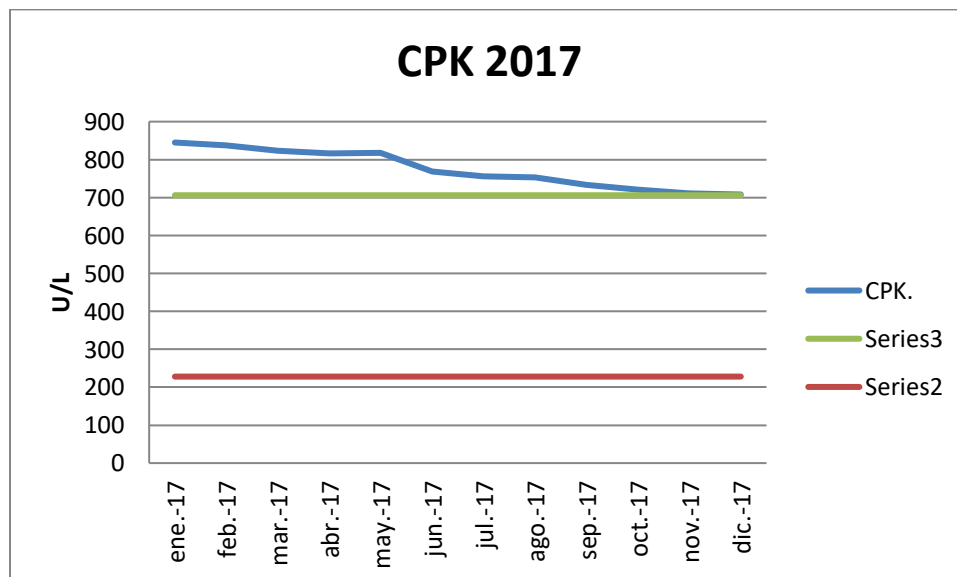
Gráfica 6. LDH 2017.



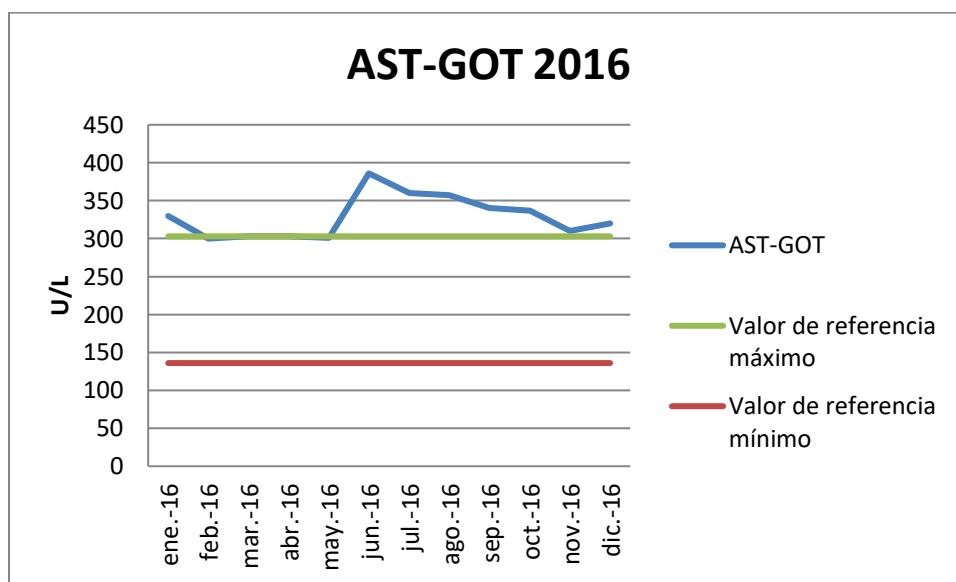
Gráfica 7. CPK 2016.



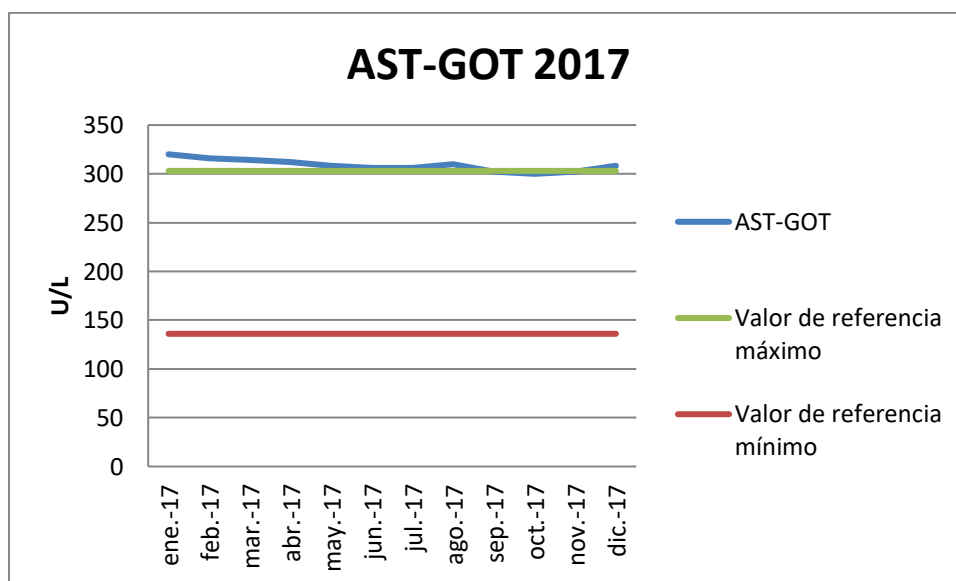
Gráfica 8. CPK 2017.



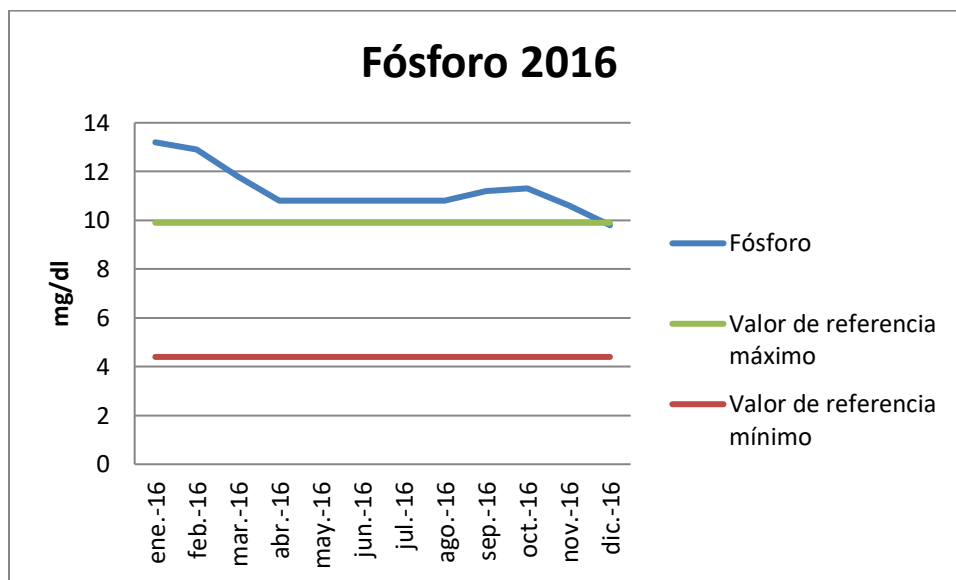
Gráfica 9. AST-GOT 2016.



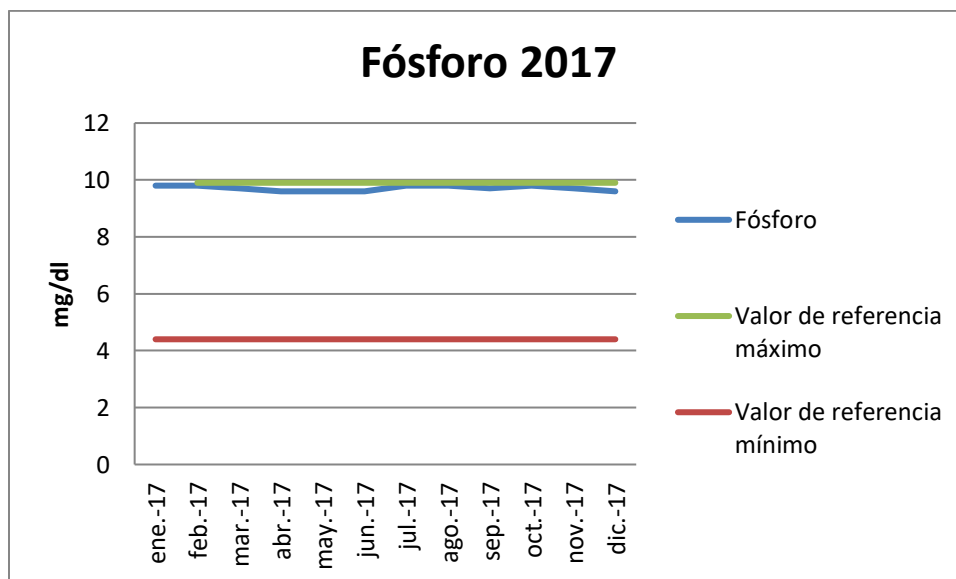
Gráfica 10. AST-GOT 2017.



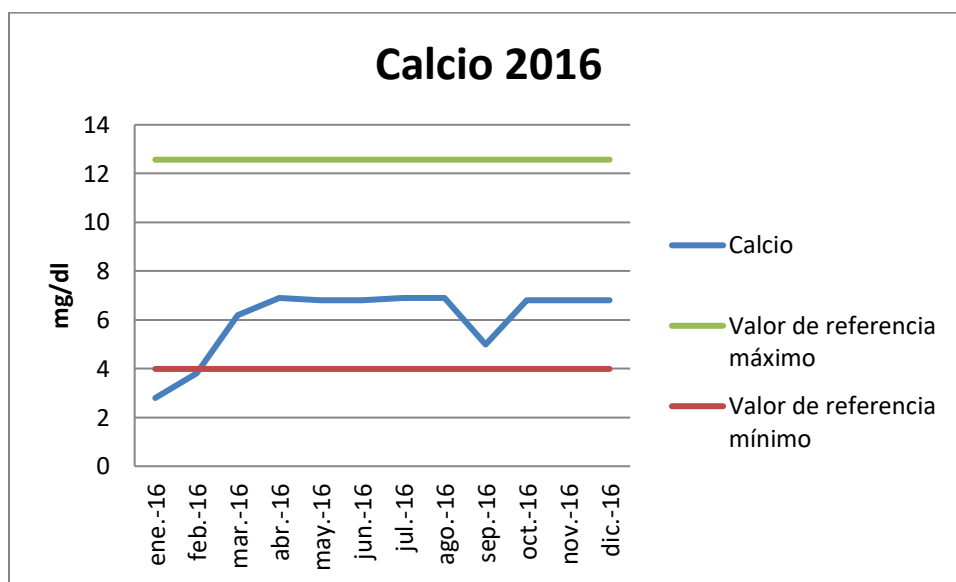
Gráfica 11. Fósforo 2016.



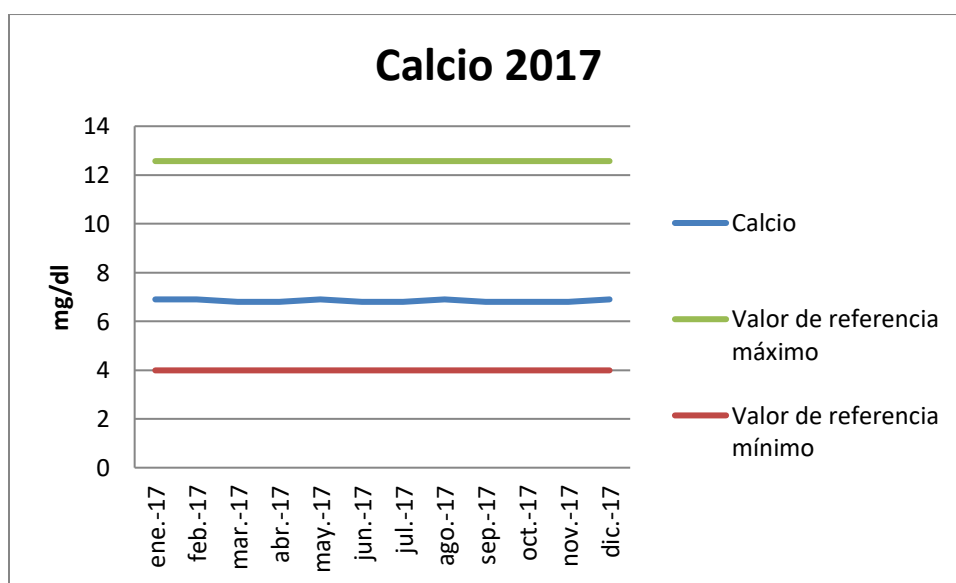
Gráfica 12. Fósforo 2017.



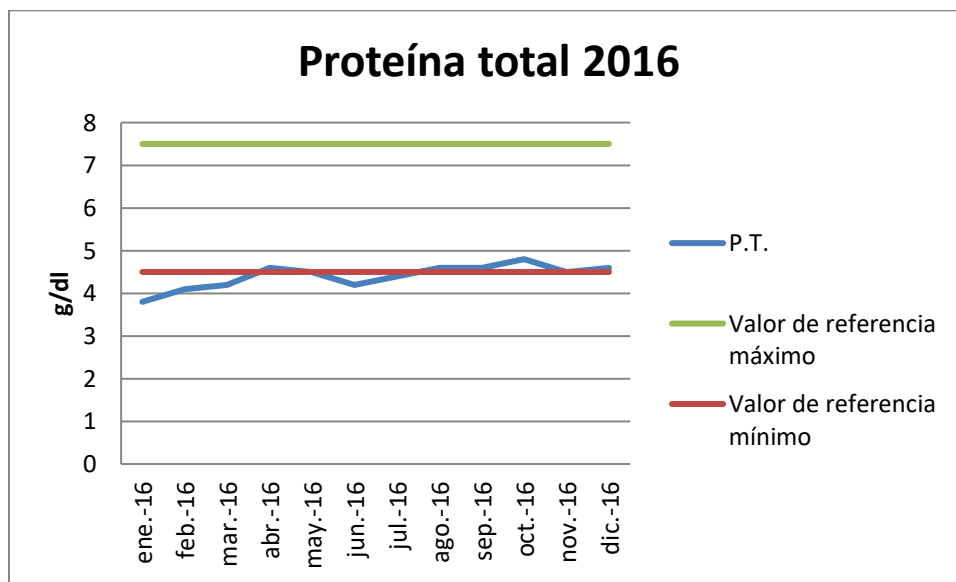
Gráfica 13. Calcio 2016.



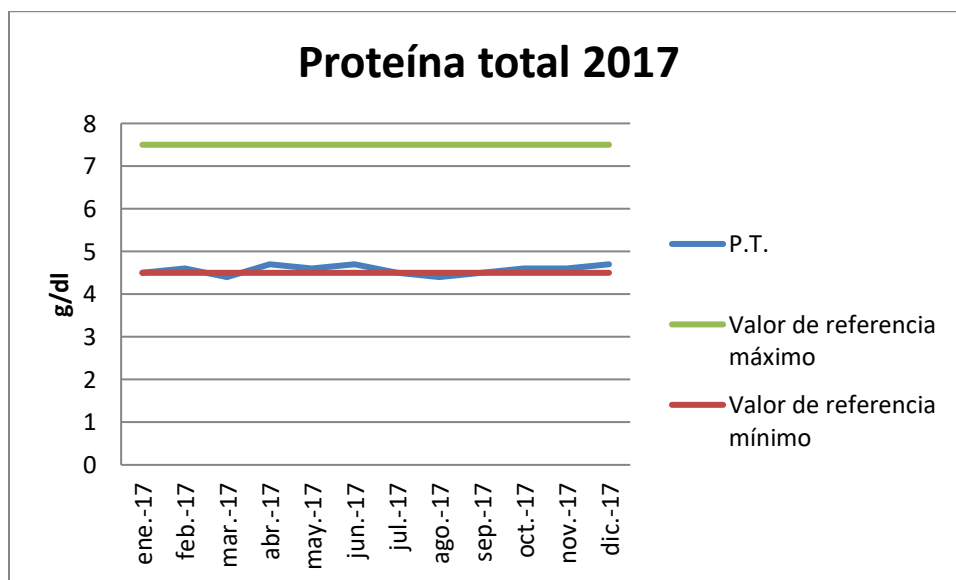
Gráfica 14. Calcio 2017.



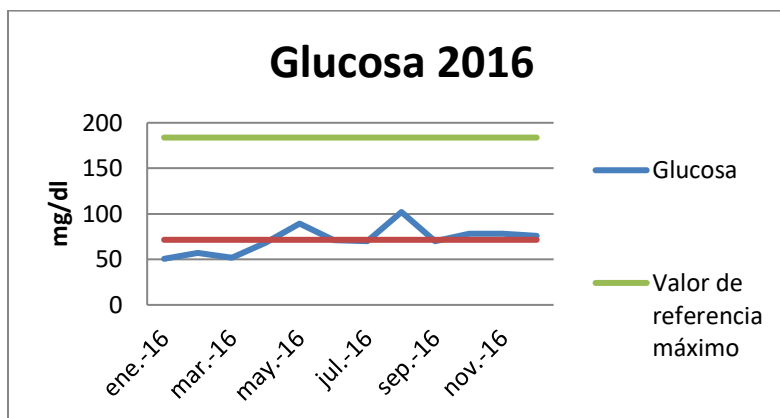
Gráfica 15. Proteína total 2016.



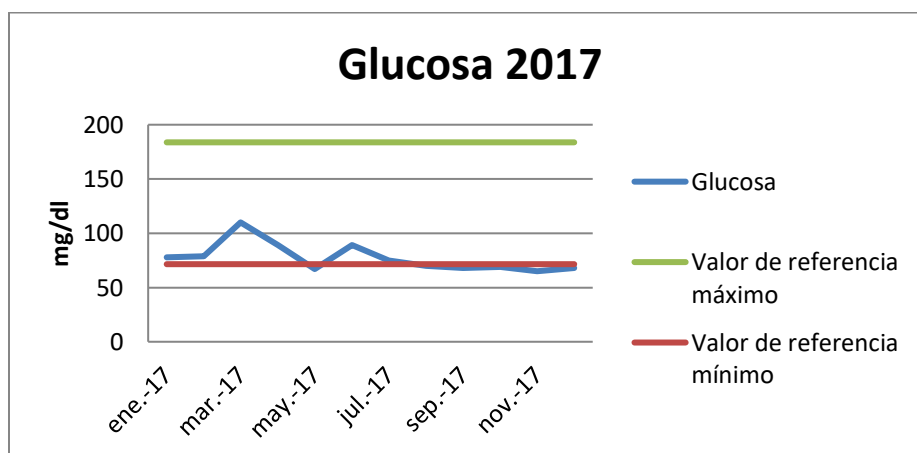
Gráfica 16. Proteína total 2017.



Gráfica 17. Glucosa 2016.



Gráfica 18. Glucosa 2017.



Hasbún, C. R., Lawrence, A. J., Naldo, J., Samour, J. H., & Al-Ghais, S. M. (1998). Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Cheloniemydas*, from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International*, 8(3), 174-177. **(Apéndice E).**

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Apéndice E:

Table 1. Blood chemistry values from clinically normal, free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*)

Assay	Large females (CCL ≥ 89 cm)			Large males (CCL ≥ 89 cm)			Medium turtles (88 ≤ CCL < 70)			Small turtles (CCL ≥ 69 cm)		
	Mean ± SD	n	Range	Mean ± SD	n	Range	Mean ± SD	n	Range	Mean ± SD	n	Range
ALP (U/L)	27.21 ± 9.65	19	10–43	29.75 ± 16.59	16	11–62	28.92 ± 9.9	13	15–51	33.92 ± 17.25	12	12–64
LDH (U/L)	211.66 ± 139.39	18	50–491	85.08 ± 39.15	13	21–153	99.92 ± 72.59	12	24–223	86.17 ± 51.24	12	18–173
AST (U/L)	153.5 ± 48.48	18	65–243	182.35 ± 46.71	17	109–267	176.92 ± 47.87	13	136–303	178.25 ± 61.02	12	112–336
Phos (mg/dl)	8.06 ± 1.96	14	3.3–11.7	7.11 ± 1.92	12	4.4–11.1	7.55 ± 1.61	10	4.4–9.9	8.53 ± 1.6	9	6.4–11.2
ALB (g/dl)	1.91 ± 0.32	11	1.5–2.5	1.97 ± 0.30	9	1.4–2.4	1.96 ± 0.3	7	1.6–2.5	1.31 ± 0.46	6	0.6–2
TP (g/dl)	5.73 ± 0.55	17	4.7–6.8	6.34 ± 1.7	17	3–9.7	5.9 ± 0.9	13	4.5–7.5	4.54 ± 1.05	11	2.8–6.5
Crea (mg/dl)	0.43 ± 0.11	16	0.26–0.64	0.51 ± 0.14	17	0.27–0.77	0.5 ± 0.1	13	0.35–0.67	0.42 ± 0.12	11	0.21–0.58
Iron (μg/dl)	77.75 ± 35.72	12	50–163	52.2 ± 13.7	9	39–78	64.29 ± 20	7	35–98	41.17 ± 15.2	6	23–62
CK (U/L)	702 ± 830.11	12	122–3075	930.67 ± 901.33	9	227–3013	383.86 ± 162.8	7	228–706	425 ± 176.7	6	173–619
BUN (mg/dl)	12.28 ± 9.53	18	1–42	7.15 ± 5.63	13	3–25	7.83 ± 6.66	12	4–28	19.55 ± 29.3	11	2–87
Ca (mg/dl)	6.86 ± 3.0	13	3.02–11.03	10.46 ± 2.6	11	5.12–14.8	8.99 ± 2.98	10	3.99–12.57	8.18 ± 1.96	9	4.3–9.83
Mg (mg/dl)	7.6 ± 0.24	12	7.24–7.96	7.75 ± 0.22	9	7.28–8.02	7.79 ± 0.18	7	7.56–8.02	7.37 ± 0.57	6	6.31–7.82
Chol (mg/dl)	226.08 ± 123.06	13	110–519	181.8 ± 51.87	10	118–257	167.71 ± 26.46	7	127–206	121.17 ± 43.07	6	70–199
Trig (mg/dl)	433.85 ± 633.52	13	55–2289	163.4 ± 72.84	10	82–294	197.57 ± 81.1	7	71–282	113.5 ± 83.9	6	25–273
Ua (mg/dl)	0.69 ± 0.49	16	0–1.6	0.53 ± 0.4	12	0–1.3	0.5 ± 0.42	10	0–1.5	0.83 ± 0.56	10	0.1–1.9
Na (mEq/l)	146 ± 5.4	9	135–153	144.33 ± 7.64	3	136–151	151 ± 1.41	2	150–152	148.4 ± 6.91	5	138–157
K (mEq/l)	6.61 ± 2.22	9	4.5–10.9	5.1 ± 0.95	3	4.5–6.2	5.2 ± 0	2	5.2–5.2	4.78 ± 0.42	5	4.2–5.2

Hasbún, C. R., Lawrence, A. J., Naldo, J., Samour, J. H., & Al-Ghais, S. M. (1998). Normal blood chemistry of free-living green sea turtles, *Cheloniemydas*, from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International*, 8(3), 174-177.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Apéndice F:

Ministerio de Salud

"2017 - Año de las Energías Renovables"

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos
ADMINISTRACION NACIONAL
DE LABORATORIOS E INSTITUTOS DE SALUD
"DR. CARLOS G. MALBRÁN"
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas

DEPARTAMENTO MICOLOGÍA
INEI ANLIS "Dr. C.G. Malbrán"
LABORATORIO ANTIFÚNGICOS
PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

Informe número (NDT): 2116

Institución:	Fundación Mundo Marino	TE.: 022522446542 FAX.: E-mail :
Paciente. Edad:	<i>Chelonia mydas</i>	Fecha ingreso: 26/12/16
Solicitado por Dr./Dra:	Laura Diaz B.	Muestra Número: sin datos
Tipo de muestra:	Cepa aislada de fractura de caparazón	Cepa remitida, identificada en origen: Hongo micelial
Solicitud:	Determinación de la sensibilidad frente a Anfotericina B, voriconazol.	

Método utilizado Método de Referencia M38-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Resultados

Fecha de realización de ensayo: 03-01-17

Antifúngico	Anfotericina B	Voriconazol	Itraconazol	Posaconazol	Anidulafungina	Caspofungina
CIM (mg/L)	0,5	0,25	0,25	0,13	0,03	1

A la fecha el CLSI no estableció puntos de corte para los hongos miceliales.

Observaciones: no se evidencian.

Universidad Nacional de la Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio

Fecha de Ingreso: 03/12/2016

Nº de INM:

Dr. / Dra.: Laura Díaz Nº de Origen:	Paciente: RO116 Chelonia mydas Edad: años
Institución / Hospital Fundación Mundo Marino Teléfono: 02252446542 Fax:	Diagnóstico Probable: Material Enviado: Cepa Examen Solicitado: Identificación

Resultado

Identificado por secuenciación parcial del gen ITS (ITS1-5.8S-ITS2) y B-tubulina como Scedosporium apiospermum